

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Nicole PIREYRE

Première Thèse

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE MORPHOLOGIQUE,
HISTOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE
DES CYSTOLITHES

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 8 Décembre 1960 devant la Commission d'examen

M. PLANTEFOL

Mme HUREL-PY

M. HELLER

Président.

} *Examineurs.*

REVUE DE CYTOLOGIE
ET DE BIOLOGIE VÉGÉTALES

12, Rue Cuvier — PARIS-Ve

1961

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Nicole **PIREYRE**

Première Thèse

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE MORPHOLOGIQUE,
HISTOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE
DES CYSTOLITHES

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le 8 Décembre 1960 devant la Commission d'examen

M. PLANTEFOL

Mme HUREL-PY

M. HELLER

Président.

} *Examineurs.*

REVUE DE CYTOLOGIE
ET DE BIOLOGIE VÉGÉTALES

12, Rue Cuvier — PARIS-Ve

1961





Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen. J. PÉRÈS.

G. JULIA.	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	THELLIER.	T Physique du globe.
DE BROGLIE.	T Théories physiques.	L'HÉRITIER.	T Génétique.
PRENANT.	T Anatomie et Histologie comparées.	GRIVET.	T Radio-électricité.
PÉRÈS.	T Mécanique des fluides et applications.	PONCIN.	T Mécanique générale.
BARRABE.	T Géologie structurale et Géologie appliquée.	DUBREIL.	T Arithmétique et Théorie des nombres.
BOURCART.	T Géographie physique et Géologie dynamique.	QUELET.	T Chimie organique.
PLANTEFOL.	T Botanique.	CAGNIARD.	T Géophysique appliquée.
GRASSÉ.	T Evolution des êtres organisés.	CHAMPETIER.	T Chimie macromoléculaire.
PRÉVOST.	T Chimie organique.	CUVILLIER.	T Micropaléontologie.
BOULIGAND.	T Application de l'analyse à la Géométrie.	JUNG.	T Pétrographie.
CHAUDRON.	T Chimie appliquée.	TRILLAT.	T Microscopie et diffraction électronique.
WYART.	T Minéralogie.	WIEMANN.	T Chimie organique et structurale.
TEISSIER.	T Zoologie.	JACQUINOT.	T Spectroscopie et physique céleste.
MANGENOT.	T Biologie végétale.	VASSY.	T Physique de l'atmosphère.
P. AUGER.	T Physique quantique et Relativité.	DESTOUCHES.	T Théories physiques.
MONNIER.	T Physiologie générale.	PRUVOST.	T Géologie.
PIVETEAU.	T Paléontologie.	AMIEL.	T Chimie générale.
ROCARD.	T Physique (E. N. S.).	HOCART.	T Minéralogie.
H. CARTAN.	T Mathématiques (E. N. S.).	J.-P. MATHIEU.	T Physique (Orsay).
LAFFITTE.	T Chimie générale.	COUTEAUX.	T Biologie animale (P. C. B.).
FAYARD.	T Géométrie supérieure.	MAY.	T Zoologie (Orsay).
COULOMB.	T Physique du globe.	CHOQUET.	T Théorie des fonctions et Topologie.
M ^{lle} COUSIN.	T Biol. animale (S. P. C. N.).	FELDMANN.	T Biologie végétale marine.
CHRÉTIEN.	T Chimie minérale.	GUINIER.	T Physique des solides.
P. DRACH.	T Zoologie.	JOST.	T Physiologie comparée.
KASTLER.	T Physique (E. N. S.).	FORTET.	T Calcul des probabilités et physique mathématique.
EPHRUSSI.	T Génétique.	SCHWARTZ.	T Calcul différentiel et intégral.
WURMSER.	T Biologie physico-chimique.	CHOUARD.	T Physiologie végétale.
RIVIÈRE.	T Géologie (S.P.C.N.), Orsay.	MALAVARD.	T Aviation.
GAUTHERET.	T Biologie végétale (P. C. B.).	BRELOT.	T Calcul différentiel.
LUCAS.	T Recherches physiques.	NORMANT.	T Synthèse organique.
A. THOMAS.	T Biologie cellulaire.	BENARD.	T Chimie minérale.
ARNULF.	T Optique appliquée.	BUVAT.	T Botanique (E. N. S.).
M. MORAND.	T Enseignement de Physique.	DUGUÉ.	T Statistiques mathématiques.
SOLEILLET.	T Physique (P. C. B.).	GÉLOSO.	T Chimie (S. P. C. N.).
FORTIER.	T Mécanique expérimentale des fluides.	SOULAIRAC.	T Psychophysiologie.
DANJON.	T Astronomie.	ULRICH.	T Physiologie végétale.
PETIT.	T Biologie maritime.	MARÉCHAL.	T Optique théorique et appliquée.
QUENEY.	T Météorologie et dynamique atmosphérique.	KIRRMANN.	T Théories chimiques.
GALLIEN.	T Embryologie.	CHADEFAUD.	T Botanique.
EICHHORN.	T Biologie vég. (S. P. C. N.).	M ^{lle} LE BRETON.	T Physiologie générale.
DE CUGNAC.	T Biologie vég. (S. P. C. N.).	SALEM.	T Mathématiques générales.
M ^{lle} CAUCHOIS.	T Chimie-Physique.	LELONG.	T Mathématiques générales.
		DEVILLERS.	T Anat. et Histol. comparées.
		EHRESMANN.	T Topologie Algébrique.
		FRANÇON.	T Physique (S. P. C. N.).

GLANGEAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	DELANGE	T	Mathématiques (Orsay).
GODEMENT	T	Mathématiques (M. G. P.).	DENY	T	Mathématiques (M. G. P.).
PISOT	T	Techniques mathématiques de la Physique.	GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides.
ROCH (E.)	T	Géologie.	LUCAS (G.)	T	Géologique.
SCHATZMANN	T	Astrophysique.	ALLARD		Chimie-Physique.
TERMIER	T	Paléontologie stratigraphique.	BERTHELOT		Physique Nucléaire et Radioactivité.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.	BRICARD		Météorologie et Physique de l'Atmosphère.
LENNUIER	T	Physique (M. G. P.).	Mme ALBE-FESSARD		Psychophysiologie.
RIZET		Génétique.	FRIEDEL		Physique des Solides.
ROUTHIER	T	Géologie appliquée.	M. JULIA		Etude des molécules organiques complexes.
M ^{me} TONNELAT	T	Relativité.	LENDER		Biol. Animale (S. P. C. N.), Orsay.
DIXMIER	T	Mathématiques (M. P. C.).	MAGAT		Physico-chimie des Rayonnements.
SOUCHAY	T	Chimie générale.	Mlle QUINTIN	T	Electrochimie.
AIGRAIN	T	Electrotechn. générale.	MONOD	T	Chimie du métabolisme.
BRUSSET		Chimie minérale.	BENOIT	T	Physiologie animale.
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies.	DE POSSEL	T	Analyse numérique.
M ^{me} CHAIX		Chimie biologique.	CHARLOT	T	Chimie analytique.
M ^{me} HUREL-PY		Biologie végétale (P. C. B.).	HAISSINSKY	T	Radiochimie.
PIAUX		Chimie (M. P. C.).	LEMÉE	T	Physiologie (B. M. P. V.).
BRUN	T	Mécanique expérimentale des fluides.	GUÉRIN	T	Chimie (M. P. C.).
LEDERER	T	Chimie biologique.	CHATELET (M.)		Chimie (S. P. C. N.).
M ^{me} DUBREIL	T	Mathématiques.	JEAN		Physique Nucléaire et Radioactivité.
M ^{me} LELONG	T	Mathématiques (E. N. S.).	MATTLER		Physique (S. P. C. N.).
BELLAIR	T	Géologie (S. P. C. N.).	MICHEL (L.)		Physique théorique des hautes énergies.
COTTE	T	Physique (Orsay).	RUMPF		Chimie (P. C. B.).
DUBOIS (J. E.)	T	Chimie organique.	BERGERARD		Zoologie (Orsay).
LAMOTTE		Zoologie (E. N. S.).	BERTIN		Electronique.
MICHEL (A.)	T	Chimie (S. P. C. N.).	BOUSSIÈRES		Chimie des Radioéléments.
OLMER	T	Energétique générale.	Mme COUTURE		Physique (P. C. B.).
ROUAULT	T	Physique générale.	ELLENBERGER		Géologie structurale et Géologie appliquée.
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.	FRANC		Biologie animale.
BARCHEWITZ	T	Chimie-Physique.	SCHNELL		Botanique tropicale.
BROSSEL	T	Physique atomique.	STOLKOWSKI		Physiologie générale.
BUSER		Physiologie comparée.	ACHER		Chimie Biologique (Orsay).
CAMUS		Physiologie vég. (3 ^e cycle).	BAUDOIN		Biologie animale (P. C. B.).
CASTAING		Physique générale.	BEAUMONT		Biologie animale (S. P. C. N.).
CURIEN		Minéralogie et Cristallog.	BLAMONT		Géophysique Ionosphère.
MOYSE	T	Physiologie végétale (Orsay).	BOURREAU		Biologie Végétale S. P. C. N. (Orsay).
PANNETIER		Chimie (S. P. C. N.).	CURIE (D.)		Physique (M. G.).
POSSOMPES	T	Zoologie.	DURAND-DELGA		Géologie.
PULLMANN		Chimie théorique.	FRÉON		Chimie (P. C. B.).
TEILLAC		Physique nucléaire et Radioactivité.	HELLER		Physiologie végétale.
TONNELAT		Biologie physico-chimique.	TORTRAT		Calcul des Probabilités.
VILLE	T	Econométrie.	CAILLEUX		Géologie (S. P. C. N.).
WILLEMART		Chimie (P. C. B.).	MAGNAN		Physique (M. P. C.).
DODÉ	T	Chimie (S. P. C. N.), Orsay.	DAUDEL		Mécanique Ondulatoire appliquée à la chimie théorique et à la Physique Nucléaire.
FREYMANN	T	Physique générale.	Mlle FOURCROY		Biologie Végétale (S. P. C. N.).
GUINOCHET	T	Biologie végétale (Orsay).			
ROLLET	T	Chimie (P. C. B.).			
Mlle JOSIEN	T	Chimie (P. C. B.).			
CHEVALLEY	T	Géométrie algéb. et théor. des groupes.			
ARNOULT	T	Electronique.			
CHAPELLE	T	Physique (M. P. C.), Orsay.			

Secrétaire général C. MONIER.

Contribution à l'étude morphologique, histologique et physiologique des cystolithes

par

Nicole PIREYRE

Résumé. — Le but de ce travail a été de reprendre la question des cystolithes aussi bien du point de vue morphologique que physiologique.

Etudes morphologiques

1) Trois types de cystolithes ont pu être mis en évidence. Ils correspondent à des caractères anatomiques et systématiques bien déterminés.

2) Toutes ces formations, à quelque type qu'elles appartiennent, ont un mode de développement comparable et évoluent à l'intérieur de cellules vivantes : les lithocystes.

3) Les cystolithes foliaires se différencient peu à peu au cours de l'existence des feuilles, mais le nombre de nouveaux cystolithes formés diminue avec l'âge de ces dernières. Leur taille n'est pas homogène à l'intérieur des limbes, mais semble en relation avec la richesse du calcium dans les différents tissus.

4) Les études histochimiques ont montré que le pédicelle, ainsi que la trame du corps cystolithique, sont calloso-pecto-cellulosiques et renferment également des composés silicatés. L'ion silicium cependant n'est pas décelable dans le *Peyssonnelia rubra*, seul végétal inférieur dans lequel on ait trouvé des cystolithes.

Les différents examens entrepris (microscope polarisant, Rayons X, Spectres infra-rouges) permettent d'affirmer que le CaCO_3 , imprégnant la trame, existe sous forme amorphe sauf dans le *Peyssonnelia rubra* où il est cristallisé à l'état aragonitique. Ces observations sont en faveur du rôle de la silice dans la stabilisation du calcaire sous forme amorphe chez les Végétaux supérieurs.

Etudes physiologiques.

- 1) La lumière est indispensable pour assurer la calcification des cystolithes.
- 2) Dans les conditions normales, le calcium est peu à peu absorbé au cours de la vie du végétal. Dans les très jeunes plantules il n'existe que sous forme soluble, puis une partie est stabilisée sous forme de carbonate sur les cystolithes et également sous forme d'oxalate.
- 3) Les modifications en ions Ca^{++} , Mg^{++} ou K^+ , des milieux de culture, ont une répercussion sur les diverses formes du calcium de la Pariétaire. Mais ce Végétal renferme toujours des lithocystes, même si ces milieux sont carencés en ions Ca^{++} . De plus, cet ion est absorbé par la plante même s'il est fourni en excès. Dans ce cas, la forte calcification des cystolithes permet de penser que ces derniers ont une action antitoxique en fixant une partie du calcium excédentaire. Le fait que les Pariétaires commencent à manifester une diminution de croissance dès que, les cystolithes ayant atteint leur maximum de calcification, les ions Ca^{++} s'accumulent à l'état soluble, vient à l'appui de cette hypothèse.
- 4) Les cystolithes peuvent également manifester une action antitoxique en accumulant des ions nuisibles au Végétal et voisins du calcium. C'est ainsi qu'en remplaçant une partie ou la totalité du calcium des milieux de culture par du strontium, on obtient des cystolithes beaucoup plus riches en strontium et qui sont même alors biréfringents, le SrCO_3 étant fixé sous forme cristallisée contrairement au CaCO_3 .
- 5) Les cystolithes peuvent jouer le rôle de réservoir de calcium. Ainsi, en supprimant cet élément au cours de la vie de la Pariétaire, une partie du carbonate des cystolithes se solubilise, cependant que les oxalates, non repris dans le métabolisme, continuent à se former.
- 6) Enfin, quel que soit le rôle joué par les cystolithes dans les Végétaux, la calcification ou la décalcification de ces derniers semble être sous la dépendance d'un facteur enzymatique : l'anhydrase carbonique.

INTRODUCTION

Le terme de cystolithe vient du grec *κυστις* (vessie) et *λιθος* (pierre) et fut créé par WEDDELL en 1854. Il a été largement employé pour désigner des épaissements membranux divers. Seul PFEIFFER définit nettement ces formations (1929). Il les considère comme des excroissances membranueuses incrustées de CaCO_3 ou de SiO_2 ou de ces deux substances et dans lesquelles on distingue deux parties très variables dans leur forme : le pédicelle, en contact direct avec la membrane cellulaire et la tête ou corps du cystolithe.

Ces formations sont connues depuis longtemps puisqu'en 1827 MEYEN les observait déjà. Depuis cette époque, et surtout pendant toute la fin du XIX^e siècle, les auteurs retrouvèrent les cystolithes dans diverses plantes et s'attachèrent à les décrire ou à les énumérer. Plus récemment, quelques rares chercheurs se sont occupés de ces formations, mais pour des problèmes restreints et précis portant sur un seul ou quelques rares exemples. Seul CHAREYRE, en 1884, a effectué un travail d'ensemble, mais avec des moyens d'observation très limités. Aussi avons-nous repris cette étude. Tout d'abord, en observant un grand nombre de cystolithes et en comparant nos résultats à ceux de nos prédécesseurs, nous avons essayé d'établir une classification simple de ces corps et de déterminer des formes intermédiaires entre ces derniers et les simples concrétions qu'on rencontre fréquemment dans le règne végétal. Cette classification instituée, nous avons essayé de dresser un répertoire aussi complet que possible des cystolithes afin de démontrer leur importance systématique. Mais bien d'autres questions se sont alors présentées que nous avons essayé de résoudre : la densité de répartition des cystolithes dans les feuilles et le problème de leur différenciation dans ces organes, les rapports entre la maturité des cystolithes et la maturité foliaire. Nous avons également étudié la constitution chimique des cystolithes à l'aide de techniques plus précises que celles abordées jusqu'alors : rayons X, spectrographies d'émission et d'infra rouge.

La place des cystolithes dans le métabolisme du calcium était également intéressante à déterminer, d'autant plus que le problème n'avait jamais été abordé. Seules des hypothèses sans vérifications sérieuses avaient été émises à ce sujet. Afin de nous mettre dans des conditions expérimentales rigoureuses, nous avons travaillé sur une seule plante cultivée à partir de la graine, en milieu synthétique, sous des conditions de température et de lumière précises. Après avoir étudié la répartition du calcium sous les trois formes (calcium soluble et lié, calcium des cystolithes et calcium des

oxalates) au cours de la vie de la Pariétaire, nous avons déterminé les modifications produites sur ces dernières par des milieux renfermant des concentrations diverses d'ions Cl^- et Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} et K^+ . Des recherches ont été faites également en substituant à l'ion calcium un élément voisin, le strontium. Un chapitre a été consacré à la recherche du rôle possible des cystolithes dans le métabolisme du calcium. Enfin, nous avons essayé d'expliquer par une action enzymatique les phénomènes de calcification et de décalcification des cystolithes. Une grande part d'hypothèse demeure dans ce dernier problème qui n'a été qu'ébauché dans ce travail.

Alors que les études morphologiques ont porté sur le plus grand nombre de plantes possible, les recherches physiologiques, ainsi que nous l'avons déjà dit, ont toutes été groupées sur un seul et même matériel, le *Parietaria officinalis*, afin que les divers résultats puissent être comparés entre eux. Aussi nous sommes-nous efforcée d'éviter des généralisations trop hâtives, et cette partie du travail devra être considérée comme une étude préliminaire susceptible d'être étendue à d'autres Végétaux et d'être développée dans des voies différentes.

Au cours de cet ouvrage, après quelques données bibliographiques, nous donnerons tout d'abord une liste du matériel sur lequel nous avons expérimenté puis nous décrirons les techniques utilisées dans les différentes recherches entreprises. Ensuite, seront exposés les résultats des études morphologiques puis physiologiques faites sur les cystolithes. Enfin, dans une dernière partie, nous commenterons les résultats obtenus, afin d'essayer de tirer des conclusions nouvelles venant s'ajouter à tout ce que nous connaissions déjà sur les cystolithes.

*
* *

Ce travail a été accompli sous la direction de M^{me} HUREL-PY, Professeur de Biologie végétale au P.C.B. Nous tenons à lui dire toute notre respectueuse gratitude pour les conseils qu'elle nous a donnés. Nous n'oublierons pas la sollicitude inlassable avec laquelle elle s'est maintes fois détournée de ses propres travaux pour nous prodiguer son temps et nous encourager dans notre travail.

Nous prions M. le Professeur PLANTEFOL, Membre de l'Institut, qui a bien voulu présider la soutenance de notre thèse, de recevoir nos sincères remerciements.

Nous avons été sensible à la bienveillance de M. le Professeur HELLER qui a bien voulu se charger de la tâche ingrate du rapport de thèse.

Nous sommes pleinement consciente de tout ce que nous devons à M^{lle} POBEGUIN, Maître de recherches, pour les précieux conseils et l'aide

amicale et efficace qu'elle nous a apportés tout au cours de ce travail. Nous tenons à lui témoigner ici notre gratitude.

A M. le Professeur PETIT, qui a eu l'obligeance de nous accueillir dans son laboratoire de Banyuls afin d'accomplir nos recherches sur le *Peyssonnelia rubra*, nous adressons l'expression de notre fidèle reconnaissance.

Nous voudrions adresser nos vifs remerciements à M^{lle} LAGRANGE, Chef de Travaux au laboratoire de Chimie analytique de l'Institut d'Hydrologie, qui nous a permis, grâce à son amabilité et à sa compétence, de mener à bien nos recherches de spectrographie d'émission, ainsi qu'à M. SALAGNAC, qui a bien voulu se charger de la réalisation des clichés de rayons X.

Nous remercions également M. MANIGAULT, Chef du service de photomicroradiographie à l'Institut Pasteur, de nous avoir permis de faire les microradiographies dans son laboratoire, M^{lle} SALMON, Chargée de recherches, d'avoir bien voulu nous initier à ces techniques et M^{lle} BARBARIN, de nous avoir fourni de précieux conseils en enzymologie.

M. le Professeur EICHHORN a bien voulu accepter de publier ce travail dans la *Revue de Cytologie et de Biologie végétales*, lui assurant ainsi une large diffusion. Nous le prions de croire à toute notre gratitude.

Enfin nous tenons à exprimer nos très cordiaux remerciements à tous nos collègues et amis du Laboratoire, dont l'aide matérielle et l'appui moral nous ont été si précieux.

HISTORIQUE

Il sera volontairement très sommaire. En effet, au cours de ce travail, nous serons souvent conduits à exposer les recherches de nos prédécesseurs afin de les comparer à nos propres résultats, ce qui complètera l'exposé que nous allons faire.

MEYEN le premier (1839) signale dans les feuilles du *Ficus elastica* des sortes de glandes qu'il nomme « Gummikeulen » (Petite massue de gomme). Ses premières observations dateraient, selon lui, de 1827. Plus tard, PAYEN (1846) découvrit que beaucoup d'autres plantes, parmi les Urticacées, possèdent ces mêmes corps pédicellés dont avait parlé MEYEN, mais ils ne sont pas, selon lui, de nature gommeuse. Ce sont des appendices celluloseux entourés à leur extrémité libre par un tissu dont les cellules, en se différenciant, offrent une configuration générale globuleuse ovoïde. A ce stade, une sécrétion de carbonate de chaux remplit de substance inorganique ces petites cellules.

SCHLEIDEN (1846) s'élève contre ces deux opinions et pense que ces formations sont les homologues des dépôts qui obstruent les poils des Borraginacées.

SCHACHT (1854) donne une définition de ces corps qu'il nomme « Traubenkörper » (corps en grappe de raisin). Ils sont, pense-t-il, formés de couches successives de cellulose imprégnée de carbonate de chaux. Mais c'est WEDDELL (1854) qui, le premier, emploie le terme de « cystolithe » et trouve que le pédicelle de ces corps est un appendice de la membrane cellulaire sur lequel se dépose le carbonate de calcium. Depuis cette époque, de nombreux travaux concernent ces formations.

Les plus anciens auteurs essayèrent tout d'abord de rechercher les plantes renfermant des cystolithes. PAYEN (1846) en signale un grand nombre appartenant toutes à la famille des Urticacées. Il pense que seuls les représentants de cette famille, outre le *Ficus elastica* étudié par MEYEN (1827 et 1839), possèdent de telles formations. SCHACHT (1854) les découvre dans les Acanthacées et, la même année, WEDDELL en signale dans certaines Nyctaginées et Euphorbiacées. De même, PENZIG (1881) assimile les formations d'une Cucurbitacée, *Momordica charantia*, à des cystolithes.

CHAREYRE (1884) tente le premier de faire une liste des principales plantes à cystolithes. Il confirme leur existence dans les Borraginacées et trouve des formations pouvant être assimilées à des cystolithes dans les Crucifères, les Composées et les Verbénacées. Mais il ne trouve pas de cys-

tolithes chez les Nyctaginées ni les Euphorbiacées, citées par WEDDELL (1854), et place les épaisissements des Cucurbitacées entre les cystolithes et les poils calcaires.

KOHL (1889) cite parmi les familles de plantes à cystolithes les Urticacées, Moracées, Cannabinacées, Acanthacées, Combrétacées, Cucurbitacées. Il parle également de cystolithes rudimentaires chez les Borraginacées, quelques Synanthérées et les Loasacées. RADIKOFER (1890) en cite également chez les Gyrocarpacées, Olacacées, Cordiacées. Enfin SOLEREDER (1899) et METCALFE (1950) mentionnent des formations semblables à des cystolithes chez les Cistacées, Campanulacées, Gesnériacées et Bégoniacées.

La forme des cystolithes est, semble-t-il, très variée, et si RICHTER (1877) distingue simplement les cystolithes fusiformes ou claviformes, HOBEIN (1884), pour les seules Acanthacées, constitue des groupes différents selon que les cystolithes sont :

- assemblés par paire,
- ronds,
- allongés et obtus aux deux extrémités,
- allongés et pointus à une extrémité,
- allongés et pointus aux deux extrémités,
- de forme variable.

SATAKE (1931) et BIGALKE (1933), utilisant des spodogrammes, établissent également des groupes variés de cystolithes apparentés à ceux de HOBEIN.

La nature chimique du support des cystolithes n'a pas donné lieu à de grandes discussions. Tous les auteurs admettent que ceux des Acanthacées et des Urticacées (les deux familles les plus riches en ces formations) présentent un substrat organique formé de cellulose. PENZIG (1881), dans ses études sur les cystolithes des Cucurbitacées, et JAKOVljeVITC (1925) sur ceux des Borraginacées, arrivent aux mêmes conclusions. PAYEN (1846) signale de plus que, par microincinération, il reste un résidu qui doit être de la silice. RICHTER (1877) reprend ces observations mais constate que très souvent les résidus disparaissent par action des acides. Cependant, il pense que les cystolithes des Urticacées comprennent une substance silicatée qui ne se retrouve pas dans ceux des Acanthacées. Par les mêmes procédés (incinération et action des acides), HOBEIN met en évidence un peu de silice dans les cystolithes de plusieurs Acanthacées : *Ruellia japonica*, *R. pullcherina*, *Sanchezia nobilis* (1884).

SATAKE (1931), WERNER (1931) et BIGALKE (1933) signalent également la présence de silice dans les cystolithes des Urticacées. WIELER (1940) ne s'occupe pas de ce composé mais pense que la trame des cystolithes d'Acanthacées et d'Urticacées est formée de composés calloso-pecto-cellulosiques. HILTZ (1951) rencontre également des composés calloso-pecto-cellulosiques dans la trame des cystolithes du *Ficus elastica*, mais signale, de plus, la présence d'un fin voile silicaté jamais mentionné jusqu'à cette date.

Notons enfin que RICHTER (1877) décrit une lignification des cystolithes de *Ruellia picta*. Mais LINSBAUER (1920) montre que ceci vient d'une décalcification due à des nécroses des cellules de la moelle, dans les entrenœuds de certaines Acanthacées, puis lignification de la membrane du lithocyste qui peut s'étendre à la partie périphérique de la trame cystolithique. KOHL (1889) signale également la présence de cystolithes complètement siliceux chez les Combrétacées et le *Ficus sycomorus*.

La nature minéralogique du calcaire a été, au contraire, fortement discutée.

SCHACHT (1854) constate que les cystolithes d'Urticacées font renaître l'image éteinte par les nicols croisés. Son observation est reprise par SACHS (1870), KNY (1874 et 1893) et RICHTER (1877) qui confirment la biréfringence des cystolithes, mais font observer qu'elle demeure après une décalcification complète, ce qui interdit toute hypothèse sur la nature minéralogique du calcaire.

PENZIG (1881) n'observe aucune biréfringence des cystolithes de Cucurbitacées, mais n'ose conclure à du calcaire amorphe et pense s'être trompé par suite d'un mauvais appareil.

CHAREYRE (1884), pour la première fois, admet que les cystolithes d'Urticacées sont en calcaire amorphe et ceux d'Acanthacées, par contre, en calcaire cristallisé.

KOHL (1889) affirme, au contraire, que le CaCO_3 se dépose toujours sous forme cristalline.

Aussi faut-il attendre 1949 pour que HILTZ et POBEGUIN prouvent d'une manière incontestable, grâce aux diagrammes de rayons X, la nature amorphe du calcaire dans le cas des cystolithes du *Ficus elastica*. Les spectres d'émission qu'elles ont obtenus montrent, également, qu'en plus du calcium ces cystolithes renferment un grand nombre d'éléments chimiques. Le silicium, en particulier, est toujours présent, aussi pensent-elles qu'il aide à stabiliser le calcaire et le maintient sous sa forme instable amorphe. Notons que WERNER (1931) avait déjà insisté sur l'affinité qui existe entre le calcium et le silicium dans les cystolithes d'Urticacées de telle sorte que ces deux éléments, toujours présents, s'y trouvent liés dans des proportions variables selon les échantillons. Toutefois, il n'a jamais parlé d'un rôle quelconque du silicium.

Quel est le processus de développement de ces formations ? SCHACHT (1854), le premier, semble s'être posé la question. Ses études sur le *Ficus elastica* le conduisent à penser qu'elles naissent à partir d'un épaississement de la paroi interne d'une cellule épidermique, sous forme d'une tige mince de cellulose qui se renfle plus tard à son extrémité et constitue ce que nous appelons maintenant le corps du cystolithe.

CHAREYRE (1884) décrit deux processus différents suivant que les cysto-

lithes appartiennent à la famille des Urticacées ou des Acanthacées. Chez les Urticacées, le carbonate apparaît lorsque la trame, formée de strates successives de cellulose, atteint son développement définitif. Chez les Acanthacées, au contraire, l'incrustation calcaire se fait de très bonne heure, ce qui n'empêche pas l'accroissement de la trame de continuer. Ce développement, dit-il, « qui au début s'effectue régulièrement dans tous les sens, s'accroît bientôt dans une direction telle que de mûriformes qu'ils étaient, les cystolithes deviennent rapidement oblongs puis linéaires ».

RICHTER (1877) ne voyant pas, chez les Acanthacées, le pédicelle des cystolithes bien développés, admet qu'il disparaît. C'est aussi l'opinion de HOBEIN (1884) et de KOHL (1889). Mais LINSBAUER (1920) n'est pas de cet avis et pense que c'est sa trop grande finesse qui le soustrait à la vue.

L'étude cytologique des cystolithes est plus récente. RADLKOFEK cependant avait, en 1890, employé pour la première fois le terme de lithocyste pour désigner les cellules renfermant les cystolithes. RENNER, en 1910, dans ses études sur les lithocystes du genre *Ficus*, les détermine comme des « cellules épidermiques d'une certaine grandeur et de forme singulière souvent d'origine trichomatique ». Mais c'est AJELLO (1941) qui le premier, à propos du *Ficus elastica*, s'intéresse non seulement aux cystolithes eux-mêmes, mais au contenu cellulaire des lithocystes. Il décrit la migration du noyau au cours du développement des cystolithes et pense qu'il demeure fonctionnel, contrairement à ce qu'admettait SACHS (1870) sans l'étudier.

SCOTT (1946) a une conception toute particulière du développement de ces formations. Ses études sur le *Beloperone californica* (Acanthacée) le conduisent à faire l'hypothèse suivante : dans le futur lithocyste apparaît une vacuole particulière dans laquelle se distinguent de très petits cristaux. Cette vacuole, entourée d'une pellicule ténue, forme en un point une sorte de tige cependant que les cristaux grossissent et deviennent papilleux. Les papilles, et la tige en particulier, sont connectées aux parois cellulaires par du cytoplasme. Cet amas de cytoplasme, plus large et plus compact au niveau de la tige qu'au niveau des autres papilles, constitue en ce point le pédicelle du cystolithe. Du cytoplasme forme également un étui autour du cystolithe et irradie des trabécules aboutissant à des plasmodesmes, ce qui permet des communications avec les cellules voisines. Les dépôts successifs se font suivant ces bandes de cytoplasme, d'où la forme des cystolithes et leur texture.

HILTZ (1951) entreprend une étude cytologique détaillée des lithocystes du *Ficus elastica* et arrive à des conclusions inverses. Elle démontre, par des plasmolyses, que le dépôt minéral se fait bien au contact du cytoplasme, mais indépendamment du système vacuolaire. Ces plasmolyses montrent en même temps que les lithocystes sont des cellules vivantes. Le comportement du noyau pendant l'élaboration du cystolithe est suivi minutieusement.

Le rôle physiologique des cystolithes semble avoir également préoccupé les différents auteurs. Mais très peu d'expérimentations ont été faites à ce sujet et la plupart d'entre eux se sont contentés d'émettre des hypothèses purement personnelles. Les uns, avec WEDDELL (1854), considèrent les cystolithes comme des excréta non utilisables par les plantes. D'autres, avec KOHL (1889), STAHL (1920) ou BERG (1932), pensent que ce sont des réservoirs de chaux. Cette chaux, mise là en réserve, serait utilisée sous forme de sels solubles dans les cellules situées à la partie supérieure des feuilles. HABERLANDT (1924) cependant, tout en les considérant comme des « réservoirs », pense que ce n'est que rarement que le calcaire est réutilisé. De même FREISLEBEN (1933) déclare que les décalcifications possibles des cystolithes sont le résultat de « phénomènes pathologiques provenant de modifications physiologiques inconnues, peut-être seulement d'une acidité renforcée du suc cellulaire ».

Les décalcifications qui interviennent, par mise à l'obscurité de certaines plantes à cystolithes, font supposer à CHAREYRE (1884) que c'est le CO_2 , dû au manque de fonction chlorophyllienne, qui agit sur le carbonate en le rendant soluble. Et si les cystolithes d'Acanthacées ne réagissent pas au manque de lumière, c'est que le carbonate de calcium s'y trouve sous forme cristallisée et non amorphe. Enfin, pour RABIGER (1951), cette décalcification des cystolithes à l'obscurité serait due au fait qu'ils emmagasinent le CO_2 de la respiration en se transformant en bicarbonate soluble. A la lumière, la transformation inverse libérerait du gaz carbonique qui servirait ensuite pour l'assimilation chlorophyllienne.

Toutes ces données nous permettent de voir combien les avis diffèrent. Aussi était-il intéressant de reprendre les questions présentées ci-dessus, en étendant les recherches morphologiques au plus grand nombre de plantes à cystolithes possible, et en adoptant, dans la partie physiologique, non plus de simples méthodes descriptives, mais des techniques quantitatives rigoureuses.

PREMIERE PARTIE

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

CHAPITRE PREMIER

MATERIEL

Dans la partie morphologique de ce travail, et en particulier dans l'étude des différentes catégories de cystolithes et de leur répartition, un grand nombre de genres ont été observés. Les échantillons ont été récoltés dans le jardin de la Faculté de Pharmacie, les serres du Muséum ou parfois dans la nature, et appartiennent à des familles chez les représentants desquelles existent, selon nos prédécesseurs, des cystolithes ou des formations cystolithiques. La liste que nous donnons ici des Végétaux étudiés suit, en général, la classification de ENGLER et PRANTL (1891-97), sauf dans de rares exceptions que nous mentionnerons.

URTICACEES

Tribu des Urérées.

Urtica dioica L. — *U. urens* L.

Tribu des Boehmériées.

Myriocarpa cordifolia Lieb. — *Boehmeria nivea* Gaud.

Tribu des Procridéés.

Pilea cadieri Gagnep. et Guillaum. — *Pellionia daveauana* N. E. Brown. — *P. pulchra* N. E. Brown. — *P. argentea* Hort. ex Gentil. — *Elatostema sessile* Forst.

Tribu des Pariétariées.

Parietaria officinalis L.

MORACEES

Tribu des Moroïdéés.

SS-TR. DES MORÉES. — *Morus alba* L. — *M. nigra* L.

SS-TR. DES BROUSSONÉTIÉES. — *Broussonetia papyrifera* Vent.

SS-TR. DES DORSTÉNIÉES. — *Dorstenia volkensii* Engl.

Tribu des Artocarpoïdéés.

SS-TR. DES EUARTOCARPÉES. — *Artocarpus integrifolia* L.

SS-TR. DES FICÉES. — *Ficus repens* Hort. — *F. religiosa* L. — *F. elastica* Roxb. — *F. bengalensis* L. — *F. carica* L. — *F. erecta* Thunb. — *F. sycomorus* L.

CANNABINACEES

Cette famille constitue, selon ENGLER et PRANTL (1895), la tribu des Cannaboïdées dans les Moracées. Mais, tous les auteurs qui les ont étudiées en ont fait une famille distincte, aussi les avons-nous séparées également des Moracées. Les représentants observés sont :

Humulus lupulus L. — *Cannabis sativa* L.

ULMACEES

Tribu des Ulmoïdées.

Ulmus campestris L. — *Planera crenata* Desf.

Tribu des Celtidoïdées.

Celtis orientalis L. — *C. occidentalis* L.

ACANTHACEES

Tous les auteurs qui les ont étudiées ont adopté la classification de BENTHAM et HOOKER (1876), mais nous verrons que la classification de ENGLER et PRANTL (1895) selon LINDAU (1894) a permis d'insister sur la valeur systématique des cystolithes. Aussi établirons-nous la liste des Végétaux examinés respectivement selon ces deux classifications.

CLASSIFICATION DE BENTHAM ET HOOKER

Tribu des Thunbergiées.

Thunbergia alata Boj.

Tribu des Acanthées.

Acanthus mollis L. — *A. spinosus* L. — *Crossandra flava* Hook.

Tribu des Ruelliées.

SS-TR. DES EURUELLIÉES. — *Ruellia strepens* L. — *R. macrantha* Mart. — *R. solitaria* Vell. — *Stephanophysum longifolium* Pohl.

SS-TR. DES PÉTALIDÉES. — *Eranthemum couperi* Hook.

SS-TR. DES STROBILANTHÉES. — *Hemigraphis colorata* Hallier f. — *H. repanda* Hallier f. — *Strobilanthes isophyllus* Nees.

Tribu des Justiciées.

SS-TR. DES BARLÉRIÉES. — *Barleria cristata* L.

SS-TR. DES ASYSTASIÉES. — *Asystasia bella* Benth. et Hook.

SS-TR. DES PSEUDÉRANTHÉMÉES. — *Pseuderanthemum velutinum* Guillaum.

SS-TR. DES JUSTICIÉES. — *Aphelandra pectinata* Wild. — *Beloperone pulchella* Linden — *Schaueria flava* — *Filtonia argyroneura* E. Cœm. — *F. gigantea* Linden — *Thyrsacanthus lemarianus* Nees — *Jacobinia alba* — *J. magnifica* Nees — *Adhatoda vasica* Nees.

SS-TR. DES DICLIPTÉRIÉES. — *Peristrophe angustifolia* Nees — *Hypoestes phyllostachya* Baker — *Dicliptera resupinata* Nutt.

CLASSIFICATION DE ENGLER ET PRANTL SELON LINDAU

Tribu des Thunbergioïdées.

Thunbergia alata Boj.

Tribu des Acanthoïdées contortées.

SS-TR. DES STROBILANTHÉES. — *Hemigraphis repanda* Hallier f. — *H. colorata* Hallier f. — *Strobilanthes isophyllus* Nees.

SS-TR. DES RUELLIÉES. — *Ruellia strepens* L. — *R. macrantha* Mart. — *R. solitaria* Vell. — *Stephanophysum longifolium* Pohl. — *Eranthemum cooperi* Hook.

SS-TR. DES BARLÉRIÉES. — *Barleria cristata* L.

Tribu des Acanthoïdées imbricatées.

SS-TR. DES ACANTHÉES. — *Acanthus mollis* L. — *A. spinosus* L. — *Crossandra flava* Hook.

SS-TR. DES APHÉLANDRÉES. — *Aphelandra pectinata* Wild.

SS-TR. DES ASYSTASIÉES. — *Asystasia bella* Benth. et Hook.

SS-TR. DES PSEUDÉRANTHÉMÉES. — *Pseuderanthemum velutinum* Guillaum.
SS-TR. DES ODONTÉMÉES. — *Dicliptera resupinata* Nutt. — *Peristrophe angustifolia* Nees — *Hypoestes phyllostachya* Baker — *Schaueria flava* — *Thyrsacanthus lemarianus* Nees.

SS-TR. DES ISOGLOSSÉES. — *Fittonia argyroneura* E. Cœm. — *F. gigantea* Linden.

SS-TR. DES JUSTICIÉES. — *Jacobinia alba* — *J. magnifica* Nees — *Beloperone pulchella* Linden — *Adhatoda vasica* Nees.

BORRAGINACEES

Tribu des Héliotropioïdées.

Tournefortia heliotropioides Hook. — *Heliotropium europaeum* L. — *H. peruvianum* L.

Tribu des Borraginoïdées.

SS-TR. DES CYNOGLOSSÉES. — *Cynoglossum officinale* L.

SS-TR. DES ERITRICHÉES. — *Asperugo procumbens* L.

SS-TR. DES ANCHUSÉES. — *Symphytum officinale* L. — *Borrago officinale* L. — *Anchusa officinalis* L. — *Lycopsis arvensis* L.

SS-TR. DES LITHOSPERMÉES. — *Lithospermum purpureo ceruleum* L. — *L. officinale* L. — *Cerinthe major* L. — *C. minor* L. — *Myosotis sylvatica* Hoffm.

SS-TR. DES ECHIÉES. — *Echium vulgare* L.

CUCURBITACEES

Tribu des Feuillées.

Thladiantha dubia Bunge.

Tribu des Cucurbitacées.

SS-TR. DES CUCUMÉRINÉES. — *Bryonia dioica* Jacq. — *Ecballium elaterium* L. — *Cucumis sativus* L. — *Benincasa cerifera* Sav. — *Lagenaria vulgaris* Ser.

SS-TR. DES CUCURBITINÉES. — *Cucurbita pepo* Tourn.

Tribu des Sicyoïdées.

Sicyos angulatus L.

COMBRETACEES

Terminalia australis Cambess. — *T. catappa* L. — *Combretum micranthum* C. Don. — *Quisqualis indica* L. — *Anogeissus schimperi* Hochst. ex Hutchinson.

LOASACEES

Loasa aurantiaca Hook.

VERBENACEES

Verbena officinalis L.

SCROPHULARIACEES

Tribu des Pseudosolanées.

Celsia orientalis L.

Tribu des Antirrhinoïdées.

SS-TR. DES ANTIRRHINÉES. — *Morandia semperflorens* Ort. — *Linaria vulgaris* Mill. — *Antirrhinum majus* L.

SS-TR. DES CALCÉOLARIÉES. — *Calceolaria rugosae* Benth.

SS-TR. DES CHÉLONÉES. — *Scrophularia aquatica* L. — *Chelone barbata* Cav. — *Phygellius capensis* E.

SS-TR. DES GRATIOLÉES. — *Mimulus luteus* L. — *Gratiola officinalis* L.

Tribu des Rhinanthoïdées.

Veronica spicata L. — *Digitalis lutea* L.

GESNERIACEES

Tribu des Cyrtandroïdées.

Columnea gloriosa Sprague — *Aeschinanthus lobbiana* Hook.

Tribu des Gesnérioidées.

Gloxinia speciosa Lodd. — *Saint Paulia ionantha* Wendl.

CAMPANULACEES

Tribu des Campanuloïdées.

Trachelium coeruleum L. — *Phyteuma spicatum* L. — *Campanula pyramidalis* L.

Tribu des Lobelioïdées.

Lobelia inflata L.

CISTACEES

Cistus laurifolius L. — *Helianthemum vulgare* Gärt. — *H. pulverulatum* Willk.

BEGONIACEES

Begonia rex Putz. — *B. semperflorens* Link.

HERNANDIACEES

Hernandia sonora L.

Enfin, nous avons également observé une Algue rouge, *Peyssonnelia rubra* J. Ag., qui appartient à la famille des Squamariacées (Cryptonémiale).

CHAPITRE II

TECHNIQUES

Les techniques utilisées dans ce travail ont été très diverses. Dans la première partie des recherches, le matériel a été étudié par les méthodes d'observation habituelles. Nous passerons rapidement sur ces méthodes. Cependant, l'étude de la répartition des cystolithes dans les plantes et de leur constitution chimique a nécessité l'emploi d'un certain nombre de techniques particulières qu'il sera nécessaire de préciser. Elles seront groupées, avec quelques autres se rattachant à la partie physiologique, sous le titre de techniques spéciales.

Pour les recherches physiologiques et, dans certains cas, pour l'étude de la répartition des cystolithes, nous avons dû cultiver des plantes dans des conditions rigoureusement contrôlées dont nous donnerons le détail. Enfin, la répartition du calcium dans les plantes a nécessité l'emploi d'une technique de dosage précise et sensible qui sera indiquée.

I. — TECHNIQUES CLASSIQUES D'OBSERVATION

A. — Techniques morphologiques

1) OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES SIMPLES ET MENSURATIONS DES CYSTOLITHES

Elles ont été effectuées sur des coupes faites au microtome ou à la main. Chaque valeur donnée au cours des mensurations est la moyenne d'un certain nombre de mesures que nous indiquerons en donnant les résultats obtenus.

2) DÉNOMBREMENT DES CYSTOLITHES

Par la méthode des rayons X.

Les feuilles des plantes étudiées ont été radiographiées suivant la technique de **LEGRAND** et **SALMON** (1954).

Les cystolithes, opaques aux rayons X, apparaissent sur les radiographies sous forme de taches blanches qu'il est plus facile de compter que sous le microscope. Les cristaux d'oxalate de calcium, présents dans les

feuilles étudiées, sont également opaques aux rayons X mais, en général, ils se distinguent bien des cystolithes. Dans les cas douteux, des vérifications au microscope polarisant ont été faites sur les feuilles ayant servi à la radiographie afin de distinguer l'oxalate biréfringent du calcaire qui ne l'est pas dans les échantillons ainsi observés.

Avant chaque radiographie, le contour des feuilles étudiées a été décalqué. Ainsi, par simple pesée du calque, est-il possible d'en connaître la surface et par suite de calculer le nombre de cystolithes par centimètre carré. Les calculs par unité de surface se justifient : nous verrons en effet que, chez les Végétaux utilisés, les cystolithes foliaires sont localisés dans l'épiderme.

Par observation directe sous le microscope.

Des numérations ont été également faites en comptant le nombre de cystolithes contenus dans le champ du microscope. Dans ce cas, les feuilles, traitées par l'alcool afin d'éliminer la chlorophylle, sont montées entre lame et lamelle dans une goutte de ce liquide ou dans de l'eau. Lorsque le contenu cellulaire est trop dense, il est parfois nécessaire de vider préalablement les cellules par l'hypochlorite de sodium.

3) PESÉES

Dans la partie physiologique du travail, il a fallu déterminer les poids sec et frais du matériel utilisé. A cet effet, les plantes sont prélevées de leur substrat et les racines lavées soigneusement dans trois bains d'eau dé-ionisée afin d'éliminer :

1° les ions, en particulier les ions calcium, qui entrent dans la constitution des milieux de culture et risquent de fausser les résultats des dosages ;

2° les particules du substrat adhérant aux racines du végétal et qui faussent les pesées. Ce lavage doit être cependant assez rapide (une minute environ), afin d'éviter une trop grande perte de poids par évaporation d'eau au niveau des feuilles.

Les racines sont ensuite essorées rapidement entre deux feuilles de papier filtre puis pesées sur une balance Mettler monoplateau sensible au 1/10 de milligramme (poids frais du végétal). Enfin, les plants desséchés, par un séjour de 48 heures dans une étuve à 90°, sont pesés en prenant les précautions habituelles (poids sec du végétal).

B. — Techniques cytologiques

Nous avons employé les techniques classiques de fixation, inclusion à la paraffine et coupes au microtome. Les fixateurs employés ont varié suivant les recherches. Pour le noyau et le chondriome, le Regaud et le Helly

ont été utilisés. Pour l'étude de la trame des cystolithes ou pour les observations moins fines, le Zenker a donné de très bons résultats. L'acide acétique qu'il renferme élimine le CaCO_3 tout en conservant la trame, ce qui permet de faire des coupes au microtome plus fines et non déchirées.

Pour que la pénétration soit meilleure, les pièces ont été soumises à un vide partiel.

Les coupes, d'épaisseurs variables selon l'état de développement des cystolithes ($5\ \mu$ dans les jeunes stades mais 20 à $25\ \mu$ dans le cas des cystolithes adultes), ont été colorées par l'hématoxyline de Regaud.

C. — Techniques cytochimiques

— Les noyaux ont été mis en évidence par la réaction nucléale de Feulgen.

— Des réactifs divers ont été aussi utilisés pour détecter les divers composants de la trame. Ce sont :

1°) le rouge de ruthénium, pour mettre en évidence les composés pectiques ;

2°) le rouge congo et le chlorure de zinc iodé, afin de détecter la cellulose ;

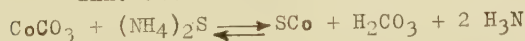
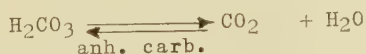
3°) le bleu coton C_4B , réactif de la callose ;

4°) le soudan III qui permet de colorer la cutine ;

5°) la réaction xanthoprotéique et le réactif de Millon, pour la recherche des protéines ;

6°) enfin la méthode de KURATA, modifiée par COQUOIN CARNOT et coll. (1956), a été adoptée pour rechercher l'anhydrase carbonique dans les tissus. Le principe est le suivant :

Grâce à l'anhydrase qui favorise la décomposition du H_2CO_3 en CO_2 et H_2O , le bicarbonate de cobalt soluble se transforme en carbonate insoluble qui se dépose sur place. Ce dernier est rendu visible topographiquement par sa transformation ultérieure en sulfure de cobalt noir suivant les formules :



Ces réactions sont appliquées sur des coupes faites à la main au moment de l'expérience. En conséquence, les territoires cytoplasmiques renfer-

mant de l'anhydrase apparaissent colorés en noir. Cependant, le calcium donne la même réaction que le cobalt après action du sulfure d'ammonium. On ne peut donc pas dire que tous les territoires présentant des précipités noirs renferment de l'anhydrase. Aussi faut-il faire des témoins, dans lesquels l'enzyme a été inhibée en laissant séjourner les coupes 1/4 d'heure dans une solution de Diamox ou de cyanure de potassium à 1 %.

Par comparaison entre les deux séries de coupes, on peut détecter l'emplacement de l'anhydrase.

II. — TECHNIQUES SPECIALES

A. — Isolement des cystolithes

1) PRÉPARATION D'UNE POUDRE DE CYSTOLITHES

Nous avons adopté à cet effet la technique de POBEGUIN (1943, 1951). Elle consiste à gratter les organes végétaux à l'aide d'un scalpel tranchant, dans un grand verre de montre contenant de l'alcool rigoureusement pur et absolu. Les tissus sont ainsi détruits et les cystolithes libérés de leur cellule. On obtient une solution alcoolique de chlorophylle contenant en suspension de nombreux débris parmi lesquels se trouvent surtout des membranes cellulaires, des cristaux d'oxalate de calcium et des cystolithes. Les débris les plus volumineux sont enlevés à la pince, les cystolithes et les oxalates sont ensuite rassemblés au fond de la coupelle par centrifugation manuelle. Ils sont lavés une dizaine de fois avec de l'alcool absolu dont on se débarrasse par simple décantation. Les cystolithes sont finalement séparés des oxalates grâce à trois ou quatre transvasements successifs, les cristaux d'oxalate plus petits adhérant, en effet, au fond des récipients. Par ce procédé, on sépare seulement les cystolithes les plus gros qui doivent être séchés très rapidement dans un courant d'air froid et sec afin d'éviter des transformations possibles du carbonate de calcium.

Avant les analyses spectrographiques, la poudre ainsi obtenue a été débarrassée de ses impuretés par un triage rapide opéré sous le microscope (grossissement = 117).

2) ISOLEMENT AU MICROMANIPULATEUR

Dans le cas du *Peyssonnelia rubra*, les cystolithes sont trop petits pour être obtenus par grattage. De plus, cette Algue sécrète également du calcium aragonitique déposé sur ses membranes externes et qui risque de se mêler aux cystolithes. Il a donc fallu extraire ces derniers un à un, au micromanipulateur, sous le microscope. Le procédé consiste à faire des coupes fines à main levée puis à en retirer les cystolithes. Nous n'avons

jamais utilisé de coupes faites au microtome, de crainte que les diverses manipulations que nécessite ce procédé ne provoquent des transformations dans la constitution minéralogique du calcaire. De telle sorte que, ne pouvant opérer que sur des coupes faites à la main et non collées sur la lame porte-objet, il nous a fallu, tout en faisant fonctionner le micromanipulateur de la main droite, les maintenir en place grâce à une aiguille tenue dans la main gauche. Parfois, nous nous sommes servie également de deux micromanipulateurs, l'un destiné à maintenir les coupes en place et le deuxième à extraire les cystolithes.

Ce procédé est très long, mais il a l'avantage de permettre l'obtention de cystolithes libres de toute impureté.

B. — Détection du strontium dans les cystolithes

Elle a été faite grâce au rhodizonate de sodium. Ce composé, en effet, donne un précipité rouge ou, dans le cas de grande dilution, une coloration de même teinte avec Sr^{++} et Ba^{++} (BRUNEL 1948).

Dans le cas des cystolithes, ces derniers, isolés par grattage, sont ensuite solubilisés par addition de HCl N, et le milieu obtenu est neutralisé par une solution à 10 % de NH_4OH . D'un autre côté, le rhodizonate est dissous jusqu'à saturation dans de l'eau distillée. Les essais de précipitation ont été faits en versant une goutte de la solution de rhodizonate dans le milieu contenant les cystolithes dissous et neutralisés.

C. — Extraction des jus

Ils ont été obtenus par simple broyage des échantillons vivants et décanation. Dans ce procédé, les jus n'ont jamais été tamponnés. En effet, les tampons aux phosphates utilisés pour maintenir le pH de 7 ont une action directe sur le carbonate des cystolithes qu'ils dissolvent.

En fait, les expériences étant toujours d'assez courte durée (5 à 6 jours), des mesures ont montré que le pH reste le même entre le début et la fin des expériences.

D. — Isolement de l'anhydrase

Nous avons adopté la méthode de MELDRUN et ROUGHTON (1933). Elle consiste à broyer les tissus frais dans un mélange de cystéine 0,01 N, tamponnée à $\text{pH} = 6,6$, et d'alcool. Après addition de chloroforme et centrifugation, l'enzyme est recueillie en solution dans le liquide surnageant du tube de la centrifugeuse. En ajoutant à la solution enzymatique une solution d'alcool-éther à 65° (solution comprenant 250 cm^3 d'alcool à 95°

et 800 cm³ d'éther), on obtient un précipité blanc qu'on laisse déposer au réfrigérateur et qui est formé en majeure partie par l'anhydrase. La poudre est isolée par centrifugation et pipetage du liquide surnageant et desséchée dans un dessiccateur à vide.

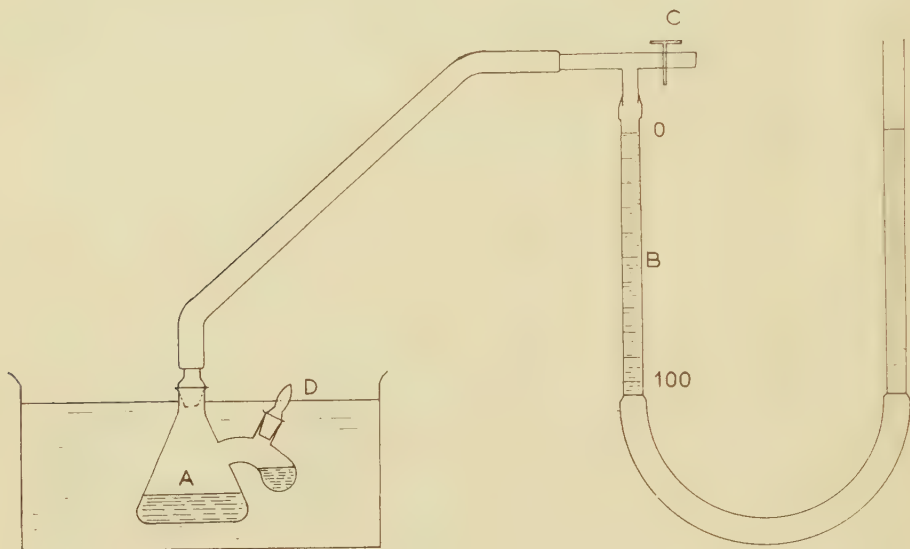


Fig. 1. — Schéma de l'appareil utilisé pour mettre en évidence l'anhydrase.

La fiole A contient un tampon phosphate avec les extraits de plantes ou un peu de la poudre obtenue après extraction de l'anhydrase. On verse la solution de bicarbonate dans la tubulure latérale par l'ouverture D qui est ensuite fermée à l'aide d'un bouchon rodé. Le tout est placé dans une cuve d'eau pour éviter les élévations de température. Le robinet C étant fermé, on incline la fiole afin de faire écouler le bicarbonate dans le mélange poudre-phosphate. On lit en B la quantité de CO₂ libérée dans l'unité de temps (ici 10 secondes). Les mesures sont refaites en employant le tampon phosphate seul. Si la poudre contient de l'anhydrase, la quantité de CO₂ dégagée est plus forte dans la première expérience que dans la seconde.

Pour s'assurer que le produit obtenu est bien de l'anhydrase, il suffit de mettre un peu de cette poudre dans un tampon phosphate, puis d'ajouter du bicarbonate de sodium en solution dans de la soude N/50. Les réactions obtenues sont les suivantes :



La première réaction est rapide, la seconde, au contraire, est lente dans les conditions ordinaires, mais peut être fortement accélérée si le produit expérimenté contient de l'anhydrase. Le schéma de l'appareil utilisé à cet effet est représenté dans la figure 1.

E. — Microincinérations

Elles ont été pratiquées dans un four Policard, aux environs de 500°, sur des coupes faites au microtome et collées à l'albumine. La technique utilisée est celle donnée par POLICARD (1938). Ce procédé est très long (une microincinération dure environ 3 heures) mais il permet, en détruisant la matière organique, de déceler les substances minérales des tissus et, en particulier, des cystolithes.

Les spodogrammes obtenus sont recouverts d'une lamelle, fixée aux quatre coins par du lut, et peuvent être décalcifiés par de l'acide dilué introduit entre lame et lamelle.

F. — Radiographies

Les feuilles des plantes étudiées ont été déshydratées par de l'alcool de plus en plus fort, puis radiographiées à l'aide d'un tube à anode de chrome et fenêtre de béryllium, selon la méthode mise au point par LEGRAND et SALMON (1954).

La fenêtre du tube à rayons X étant de faible diamètre, nous avons utilisé, en général, les plus jeunes feuilles possédant des cystolithes calcifiés. Ceci afin de ne pas avoir à trop les sectionner et à prendre un trop grand nombre de radiographies.

G. — Diagrammes de rayons X

Les cystolithes, isolés par grattage ou au micromanipulateur, ont été collés par la quantité minimum de baume de Canada à l'extrémité d'une baguette de verre terminée en pointe très fine. Les diagrammes ont été faits par la méthode du cristal tournant à l'aide d'une chambre de 240 mm mise au point par ROSE et utilisant le rayonnement $K\alpha$ du cuivre. Dans le cas du *Peyssonnelia rubra*, ils ont été faits également à l'aide d'un cristallobloc GUINIER à anticathode de cuivre sur des coupes dans lesquelles le calcaire externe avait été éliminé à l'aide du micromanipulateur.

Dans les deux cas, le principe est le même : un faisceau monochromatique de rayons X traversant une substance cristalline donne naissance à un grand nombre de rayons, diffractés par suite de leur réflexion sur les

différents plans réticulaires. Ces rayons, en frappant une plaque photographique, donnent des raies dont l'importance et la disposition sont caractéristiques des corps analysés.

H. — Spectres infra-rouges

Leur principe est le suivant : lorsque des radiations infra-rouges traversent un milieu quelconque, certaines d'entre elles subissent une absorption sélective qui permet de caractériser la substance utilisée. Les bandes d'absorption ainsi obtenues peuvent être enregistrées photographiquement ou mécaniquement. Dans nos études, les spectres ont été faits sur des cystolithes isolés par grattage et étalés entre deux lames de sel gemme (substance transparente aux infra-rouges), en une couche de quelques μ la plus homogène possible. Parfois, les cystolithes ont été mêlés avec de la vaseline avant d'être mis entre les lames de sel gemme afin d'obtenir une plus grande homogénéisation du matériel.

Les bandes d'absorption ont été enregistrées grâce à un spectrographe Perkin Elmer simple faisceau 12 C ou double faisceau modèle 21, l'un comme l'autre étant muni d'un prisme de chlorure de sodium.

Sur les graphiques ainsi obtenus, les abscisses correspondent aux longueurs d'onde et les ordonnées aux intensités des radiations dans le spectre. Les bandes ont été enregistrées entre 5 et 15 μ , c'est-à-dire entre 2000 et 666 cm^{-1} .

I. — Spectres d'émission

Les spectres utilisés étaient des spectres d'arc entre électrodes de charbon. Dans ce procédé, l'un des charbons, taillé en forme de creuset, contient la poudre à analyser (cystolithes isolés par grattage) et joue le rôle d'anode. La cathode, en charbon également, est une baguette terminée en pointe. L'arc électrique jaillit entre les deux électrodes qui sont ainsi portées à une très haute température. La substance est peu à peu volatilisée et ionisée. Le spectre comprend des raies de l'atome neutre et de l'atome ionisé. Il est recueilli sur une plaque photographique. Les longueurs d'onde sont déterminées par comparaison avec le spectre du fer dont on connaît les raies caractéristiques et leur emplacement. La région examinée est celle des longueurs d'onde comprises entre 2300 et 5800 Å.

III. — TECHNIQUES DE CULTURE

Les graines, récoltées dans la nature, ne se comportent pas d'une façon homogène lorsqu'on les met à germer : un nombre important ne germe pas

(1/5 environ), et, parmi celles qui se développent, la vitesse d'évolution n'est pas la même pour toutes.

Pour éviter les erreurs venant de ce manque d'homogénéité, il a fallu ensemercer tout d'abord les graines, puis repiquer les germinations de taille comparable (Planche I B) sur les différents milieux de culture utilisés.

A. — Germination des graines

Ces dernières sont toujours mises à gonfler pendant une heure dans de l'eau dé-ionisée avant d'être réparties sur du papier filtre imbibé d'eau également dé-ionisée (fig. 2). Elles sont alors placées dans une étuve de verre située devant une baie vitrée et maintenue à une température voisine de 25°. Elles restent huit jours sur leur substrat avant d'être repiquées.

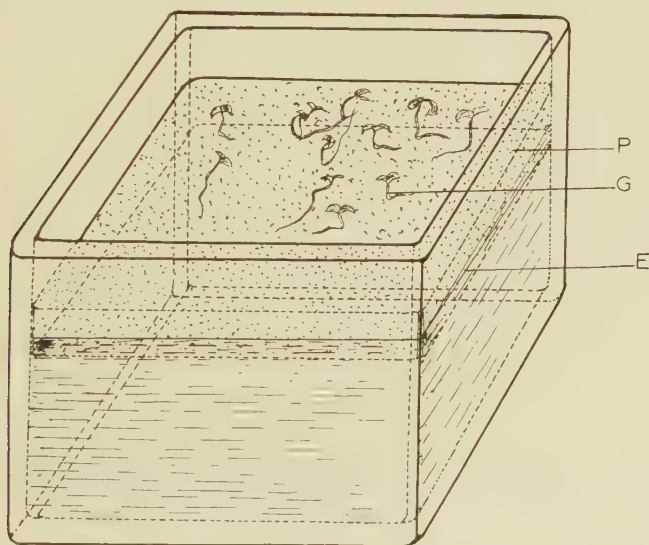


Fig. 2. — Schéma des cuves utilisées pour faire germer les graines.

Les graines sont réparties sur le papier filtre (P) dont les extrémités trempent dans de l'eau dé-ionisée (E) contenue dans la cuve, ce qui assure une humidité constante du matériel.

G = Plantules en germination.

B. — Repiquage

1) CHOIX DU SUPPORT

Les cultures de *Pariétaires* ont servi à étudier l'influence de différents ions, et en particulier des ions Ca^{++} , sur les diverses formes de calcium

dans la plante. Il était donc impossible de solidifier les milieux de culture avec de la gélose qui contient cet élément en abondance. Nous avons tenté de prendre comme substrat un mica synthétique : la vermiculite. Elle a l'avantage de fixer les molécules d'eau par adsorption et d'assurer ainsi une humidité constante du matériel. Cependant, nous n'avons pu l'utiliser malgré un lavage soigné, car il n'a jamais été possible d'obtenir sur elle les symptômes de carence calcique. Il faut donc supposer qu'elle renferme toujours des traces de calcium, aussi avons-nous adopté la silice, seul substrat ayant permis d'obtenir une élimination totale des ions Ca^{++} . Celle qui nous a servi se présente sous forme de granules de trois millimètres de diamètre.

Comme récipients de culture, nous avons pris des jardinières de polyvinyle. Elles sont munies de deux orifices inférieurs (Planche I A) qui sont obturés au cours des expériences par des bouchons de matière plastique mais permettent, comme nous le verrons, de laver périodiquement par courant descendant substrat et racines des cultures.

2) MILIEUX DE CULTURE UTILISÉS

Dans tous les cas nous avons utilisé des produits chimiques rigoureusement purs, des établissements Prolabo. Leur solution est faite dans de l'eau dé-ionisée dont la résistivité, surtout pour les milieux carencés, est supérieure ou égale à 1.000.000 d'ohms.

a) *Milieu de référence.*

Le milieu de culture de référence utilisé est le milieu de Knop dilué de son volume d'eau. Cette dilution était nécessaire pour les expériences sur le remplacement du calcium par le strontium étant donné la faible solubilité des sels de strontium. Afin d'homogénéiser les résultats, le milieu de Knop dilué a été employé pour tous les milieux témoins. Nous l'appellerons indistinctement « Knop/2 » ou « milieu témoin ».

b) *Autres milieux.*

— *Milieux carencés :*

Dans les carences en ions calcium, magnésium ou potassium, le cation manquant est remplacé par l'ion Na^+ afin de conserver l'équilibre ionique (tableau I).

γ) En magnésium : ils sont tous plus magnésiens que le Knop de base et n'en diffèrent que par une addition plus ou moins forte de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (tableau III).

TABLEAU III

Composition (en g par litre)
des milieux dont la concentration en Mg^{++} est variable

Sels	Concentration en ml Mg^{++}						
	0,5 knop dilué	1	2	4	8	16	32
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$		0,101	0,305	0,711	1,525	3,151	6,404
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: 0,5 KNO_3 et KH_2PO_4 : 0,125							

δ) En potassium : les milieux à 1,2 ml de potassium sont obtenus en remplaçant le phosphate monopotassique du Knop par du phosphate monosodique. Les autres milieux sont du Knop additionné de quantités variables de KCl (tableau IV).

TABLEAU IV

Composition (en g par litre)
des milieux dont la concentration en K^+ est variable

Sels	Concentration en ml K^+					
	1,2	2,1 Knop dilué	4	8	16	32
KH_2PO_4		0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
NaH_2PO_4	0,102					
KCl			0,14	0,438	1,034	2,227
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: 0,5 KNO_3 et $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,125						

— Milieux dans lesquels une partie ou la totalité des ions Ca^{++} est remplacée par des ions Sr^{++} :

Dans ce cas, nous avons utilisé du Knop dans lequel tout ou une partie du $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ est remplacé par du $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ (tableau V).

TABLEAU V

Composition (en g par litre) des milieux contenant du strontium

Sels	Concentration en ml		
	$0\text{Ca}^{++} \ 2,1\text{Sr}^{++}$	$0,5\text{Ca}^{++} \ 1,6\text{Sr}^{++}$	$1\text{Ca}^{++} \ 1,1\text{Sr}^{++}$
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$		0,119	0,238
$\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$	0,450	0,432	0,235
KNO_3 ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ et KH_2PO_4 : 0,125			

Notons que tous les milieux ont été additionnés au moment de l'emploi de 10 gouttes par litre de solution de Berthelot modifiée par GAUTHERET (1942), et dépourvue de calcium.

3) CONDITIONS PHYSIQUES DU DÉVELOPPEMENT DES CULTURES

Afin d'avoir des résultats aussi comparables que possible, chaque jardinière bouchée à sa partie inférieure reçoit, avant le repiquage, 100 cm³ du milieu expérimenté : c'est la quantité nécessaire pour la remplir. Tous les mois, après débouchage, silice et racines sont arrosées soigneusement à l'eau dé-ionisée afin d'éliminer les produits fermentaires qui pourraient s'être accumulés, les cultures n'étant pas faites en milieu aseptique et l'aération du substrat étant probablement insuffisante. Chaque lavage est suivi d'une nouvelle adjonction de 100 cm³ de milieu. Entre deux lavages, les plants sont arrosés avec de l'eau dé-ionisée conservée dans des bouteilles de polyéthylène. Ces arrosages ont pour but, non seulement d'assurer l'humidité nécessaire à la plante, mais aussi de maintenir la concentration primitive du milieu. En effet, par suite d'une évaporation inévitable et comme il ne nous est pas possible, dans nos conditions d'expérience, d'éliminer chaque jour le reste du milieu nutritif non absorbé par les plantules, il s'ensuit qu'en arrosant les cuves avec ce milieu on concentrerait chaque fois un peu plus les ions à l'intérieur du substrat. En arrosant avec de l'eau dé-ionisée, au contraire, on tente de rétablir une concentration normale des éléments minéraux. Les cultures se trouvent donc dans des milieux relativement constants et leurs conditions de nutrition sont com-

parables. Notons qu'au moment où le milieu de culture est renouvelé, celui-ci n'est pas totalement épuisé en ions calcium, comme on peut s'en assurer par adjonction d'oxalate d'ammonium.

Les jardinières contenant chacune vingt plantules destinées aux expériences sont placées dans une cave à température constante (20°). L'éclairage, dont la durée journalière est de 12 heures dans nos expériences, est assuré par une rampe de 4 lampes Phytorel lumière du jour. La quantité de lumière reçue au niveau des récipients de culture est de 3000 lux.

C. — Nettoyage du matériel

Avant toute opération, bacs pour germination, jardinières et silice sont mis à tremper durant une nuit dans de l'acide chlorhydrique dilué 3 fois. Le matériel est ensuite rincé abondamment avec de l'eau dé-ionisée.

IV. — TECHNIQUES DE DOSAGE DU CALCIUM

Les dosages ont été faits sur la totalité des plants d'une cuve, soit environ 20. Dans le cas des analyses faites sur de jeunes plantules, nous avons pris cependant un plus grand nombre de ces dernières (40 ou 80 selon l'âge) afin de diminuer les erreurs, tant de pesées que de dosages, qui ne manqueraient pas d'être fortes, comparées au poids de matériel utilisé.

Nous avons adopté les méthodes complexométriques de dosage du calcium. Elles sont très sensibles et plus rapides que la méthode au permanganate. Voici comment nous les avons adaptées à notre matériel.

A. — Extraction des différentes formes de calcium

Trois procédés ont été utilisés par nos prédécesseurs pour extraire les diverses formes de calcium.

KOSTYTSCHEW et coll. (1929) emploient successivement :

- l'eau, pour extraire les sels de calcium solubles ;
- l'acide acétique, pour séparer le calcium des phosphates et des carbonates ainsi que le calcium lié sous forme de complexe, ce dernier pouvant être obtenu seul par macération préalable des tissus dans une solution de chlorure de sodium ;
- l'acide chlorhydrique qui extrait en dernière manipulation le calcium des oxalates.

RABIGER, lorsqu'il étudie la décalcification des cystolithes (1951), sépare également le calcium soluble et lié du calcium insoluble en isolant le pre-

mier par macération des tissus végétaux dans une solution de soude et le calcium insoluble par action de l'acide chlorhydrique sur le résidu.

Enfin, dans son étude sur la distribution du calcium dans les végétaux, ABUTALYBOV (1956) extrait :

- le calcium absorbé, par action de NaNO_3 2N sur le résidu ;
broyés dans H_2O ;
- le calcium absorbé, par action de NaNO_3 2N sur le résidu ;
- le calcium des carbonates et des phosphates, par action de CH_3COOH 2N ;
- le calcium des oxalates, par action de HCl 2N.

La méthode de RABIGER, ne tenant pas compte des oxalates, ne peut pas être retenue. Nous avons utilisé la méthode d'ABUTALYBOV, assez voisine de celle de KOSTYTSCHEW, mais nous avons extrait ensemble calcium soluble et lié, car c'est surtout le calcium des cystolithes qui nous intéresse *a priori*. Les différentes manipulations sont les suivantes :

1) *Calcium soluble et lié*. — Les échantillons secs sont broyés à l'intérieur même du bécher dans lequel ils seront traités afin d'éviter les pertes de substance. Ils sont ensuite additionnés d'une solution bouillante de NaNO_3 2N. Après refroidissement et macération pendant 24 heures, puis filtration, le résidu est soigneusement lavé avec une nouvelle solution de nitrate de sodium 2N, puis lavé à l'eau. Le filtrat total ainsi obtenu contient le calcium soluble et le calcium lié aux protéines des pectates. Dans le courant de ce travail, nous l'appellerons simplement calcium soluble.

2) *Calcium des carbonates*. — Le résidu de l'expérience précédente est recueilli puis traité pendant 24 heures par une solution d'acide acétique à 10 % afin d'extraire le carbonate de calcium des cystolithes. Le filtrat, en effet, ne doit pas contenir de phosphate car, dans la Pariétaire sur laquelle nous avons manipulé, nous n'avons jamais pu observer de cristaux de phosphate de calcium. De plus, nous avons fait des essais de dosage sur les tiges et les racines qui ne renferment pas de cystolithes, et à aucun moment nous n'avons trouvé de calcium dosable dans le filtrat provenant de l'action de l'acide acétique, contrairement à ce qui se serait produit s'il y avait eu des phosphates.

3) *Calcium des oxalates*. — Le nouveau résidu est mis à macérer dans une solution de HCl N afin d'obtenir la dissolution des oxalates de calcium.

Remarque. — Nous nous sommes demandé si le calcium des membranes est extrait dans nos conditions d'expérience. Un des procédés employés pour doser les composés pectiques consiste à les hydrolyser par saponification, puis à les précipiter en milieu acétique par adjonction de chlorure

de calcium. Le pectate de calcium ainsi formé est isolé et pesé (CARRE et coll., 1922), ce qui laisse supposer qu'il est insoluble dans l'acide acétique. Le fait de ne pas trouver de calcium dosable dans la fraction acétique des tiges confirme cette hypothèse. Aussi devons-nous penser que cette partie du calcium n'est pas extraite avec les cystolithes. KERTESZ (1951) signale de son côté que le pectate de calcium est insoluble dans une solution de soude, mais par lavages successifs avec cette dernière une partie des ions Ca^{++} est remplacée par des ions Na^+ , d'où formation de pectate de sodium soluble. De même, par lavages successifs avec de l'acide chlorhydrique, le pectate de calcium serait partiellement solubilisé. On peut donc penser que le nitrate de sodium, par son ion Na^+ , permet d'extraire une partie du calcium des pectates, une autre partie pouvant être obtenue par action de l'acide chlorhydrique en même temps que le calcium des oxalates.

B. — Préparation des liquides à doser

Le calcium a été isolé par précipitation sous forme d'oxalate selon la technique de PIETTE (1956). Le précipité est ensuite dissous à chaud dans la quantité minimum d'acide chlorhydrique et la solution obtenue diluée à 50 cm³ dans une fiole jaugée. Dans le cas des oxalates cependant, cette dilution est toujours faite à 25 cm³ seulement.

Remarque. — Nous aurions pu éviter de faire précipiter le calcium sous forme d'oxalate. En effet, les méthodes complexométriques employées dosent non pas les ions oxaliques, mais le calcium lui-même. Nous avons adopté toutefois ce mode de préparation de crainte que des ions étrangers ne viennent fausser les résultats obtenus. Les ions magnésium, en particulier, peuvent, s'ils sont présents en trop grande quantité, avoir une action sur le virage de la murexide. Il en est de même pour le fer (SMITH et coll., 1956 ; HORNER et coll., 1955). Mais, naturellement, le liquide surnageant après précipitation du calcium n'a pas besoin d'être éliminé totalement et l'oxalate d'être lavé. On évite ainsi de perdre une partie du matériel à doser par suite de manipulations nombreuses, comme c'est le cas dans la méthode au permanganate.

C. — Dosage proprement dit

1) PRINCIPE

Le principe sur lequel reposent nos dosages est le suivant : En présence de Ca^{++} , et pour un $\text{pH} = 12$, la murexide ou purpurate d'ammonium

forme un complexe appelé improprement purpurate de calcium. La murexide, normalement violette, prend alors une coloration rose. Un corps tel que le sel disodique de l'acide éthylène diamino-tétra-acétique (EDTA), plus communément connu sous le nom de complexon III, ajouté au complexe murexide-calcium, a la propriété de former avec le calcium une combinaison « chélatée ». L'ion Ca^{++} est ainsi peu à peu déplacé par le complexon. Quand tout le calcium est entré dans cette nouvelle combinaison, la murexide reprend sa teinte normale et vire par conséquent du rouge au violet.

2) MÉTHODE UTILISÉE

Les dosages ont été faits selon la méthode de DREVON et coll. (1953, 1954) en utilisant une solution d'éthylène diamino-tétra-acétate de sodium (EDTA) 0,1 N. Cependant :

a) Le virage de la murexide a été apprécié visuellement et non au spectrophotomètre. Aussi, pour diminuer les erreurs, les résultats obtenus sont toujours les moyennes de 3 ou 4 dosages faits sur 2 volumes différents de solution à doser.

b) De plus, pour homogénéiser les erreurs, la prise d'essai a toujours été adaptée au liquide à doser.

En général nous avons fait les dosages :

- sur 1 et 2 cm^3 , dans le cas du calcium soluble et du calcium des cystolithes ;
- sur 2 et 5 cm^3 , pour le calcium des oxalates qui est moins abondant.

Dans ce même but, nous avons utilisé une solution de EDTA diluée 5 fois pour les solutions à doser très peu calciques. Mais nous nous sommes aperçue que, très souvent, il est préférable d'augmenter la prise d'essai que d'utiliser des solutions trop diluées de EDTA.

c) Au moment de la neutralisation de la solution calcique par la soude, nous avons toujours contrôlé que le pH est voisin de 12. En effet, avec un pH trop fort, la teinte rouge du complexe murexide calcium devient alors légèrement violacée et le virage est moins nettement visible.

3) PRÉCISION DE LA MÉTHODE

La sensibilité de la réaction est très grande. Elle atteint le γ avec les solutions diluées 5 fois.

La précision de la méthode varie, nous l'avons vu, avec la quantité de matériel utilisée et la quantité de calcium qu'elle contient. Nous avons vu également qu'il est possible de l'homogénéiser par le jeu des prises d'essais.

A titre d'exemple, les calculs statistiques faits sur 10 dosages du calcium total de 10 plants jeunes de Pariétaires :

poids frais = 1,1615 g
poids sec = 0,1151 g
EDTA = 3,6 g/litre

prise d'essai 1 ml,

indiquent une erreur de 1,6 %, à laquelle il faut ajouter les erreurs dues aux diverses manipulations.

V. — COMPARAISON DES RESULTATS NUMERIQUES

Dans tous les cas où des résultats numériques sont intervenus, nous les avons soumis à des analyses statistiques simples. Les limites de sécurité ont été calculées à l'aide du *t* de STUDENT-FISCHER pour le seuil de probabilité 0,05.

DEUXIEME PARTIE

ÉTUDE MORPHOLOGIQUE ET HISTOCHIMIQUE
DES CYSTOLITHES

Avant d'entreprendre l'exposé de nos recherches, un schéma général de la cellule à cystolithe permettra d'en indiquer les principales parties conformément aux conceptions actuelles.

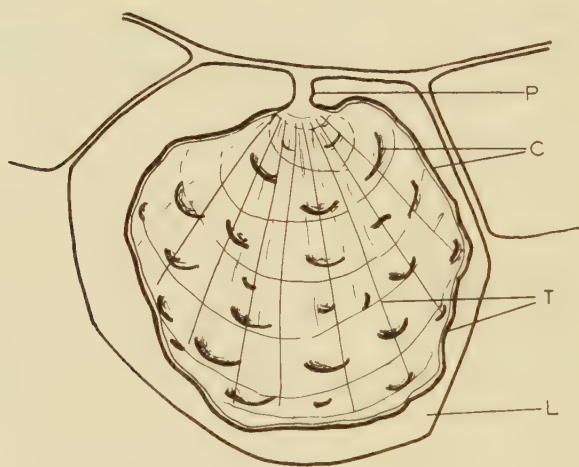


Fig. 3. — Schéma général d'une cellule à cystolithe.

Le cystolithe est formé d'un pédicelle P et d'une trame T imprégnée de calcaire C. La cellule dans laquelle il se trouve s'appelle lithocyste (L).

CHAPITRE PREMIER

DIVERSES FORMES DE CYSTOLITHES ET ETUDE DE LEUR REPARTITION DANS LES TISSUS LES ORGANES ET LES DIFFERENTES FAMILLES VEGETALES

I. — DIFFERENTES FORMES DE CYSTOLITHES

Si l'on considère les cystolithes dans le sens que leur a donné PFEIFFER (1929) et que nous avons mentionné au début de ce travail, il est possible, malgré les nombreuses subdivisions données par HOBEIN (1884), de trouver trois groupes principaux de cystolithes, à savoir : les cystolithes globuleux et deux catégories de cystolithes allongés. En plus de ces trois groupes, nous avons étudié également une formation très proche des vrais cystolithes constituée par des épaisissements calcaires en amas.

A. — Cystolithes globuleux

Nous prendrons comme type les cystolithes d'une Urticacée : le *Parietaria officinalis* L. Dans ce cas, le corps du cystolithe a l'aspect d'une sphère dont le pourtour comprend de nombreuses protubérances. Il est rattaché à la membrane cellulaire par un pédicelle assez fin, souvent caché par l'abondance du dépôt calcaire constituant la plus grande partie du corps cystolithique.

Chez le *Ficus elastica* Roxb., le *Ficus sycomorus* L. ou le *Broussonetia papyrifera* Vent., trois Moracées également étudiées dans ce travail, les cystolithes, au lieu d'être sphériques, sont plus ou moins piriformes. Leur pédicelle, très réfringent, est aussi plus volumineux que celui des cystolithes du *Parietaria officinalis* (fig. 4).

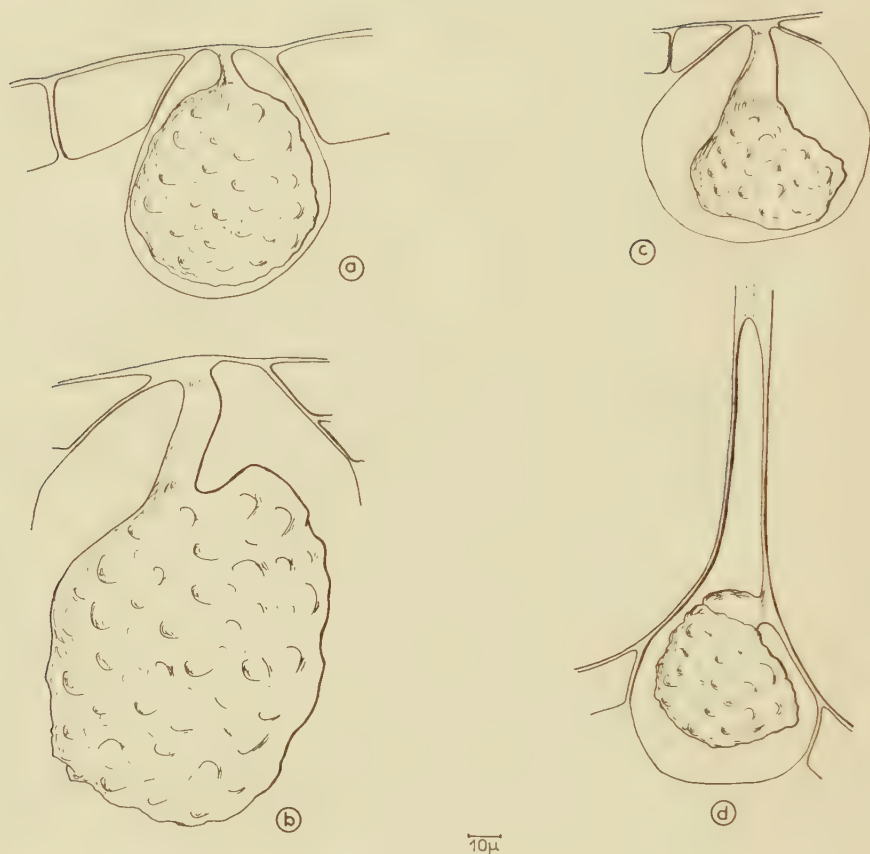


Fig. 4. — Différentes sortes de cystolithes globuleux.

a) *Parietaria officinalis* L. ; b) *Ficus elastica* Roxb. ; c) *Ficus sycomorus* L. ; d) *Broussonetia papyrifera* Vent.

B. — Cystolithes allongés

Le corps des cystolithes, au lieu d'être sphérique ou piriforme, a subi au cours de sa formation un allongement dont le sens permet de trouver deux subdivisions dans ce groupe.

1. Dans une première catégorie, l'allongement du corps cystolithique s'est fait dans le sens du pédicelle : Type *Ruellia* (fig. 5 a).

2. Dans une seconde catégorie, l'allongement s'est fait perpendiculairement au pédicelle : Type *Pilea* (fig. 5 b).

Dans les deux cas, le pédicelle, en général très fin, est de ce fait difficilement visible dans les stades adultes très calcifiés. Aussi les cystolithes de ces deux catégories se ressemblent-ils beaucoup. Cependant, ceux de

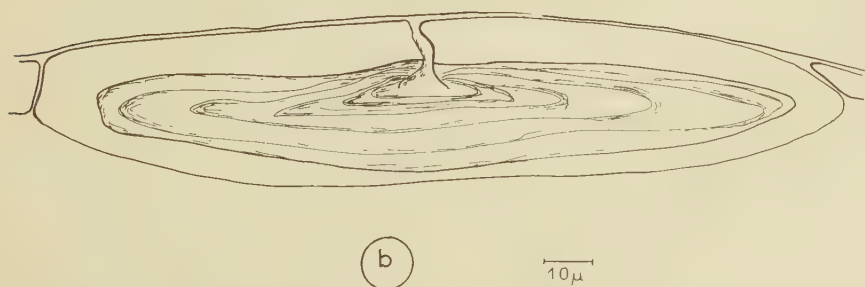
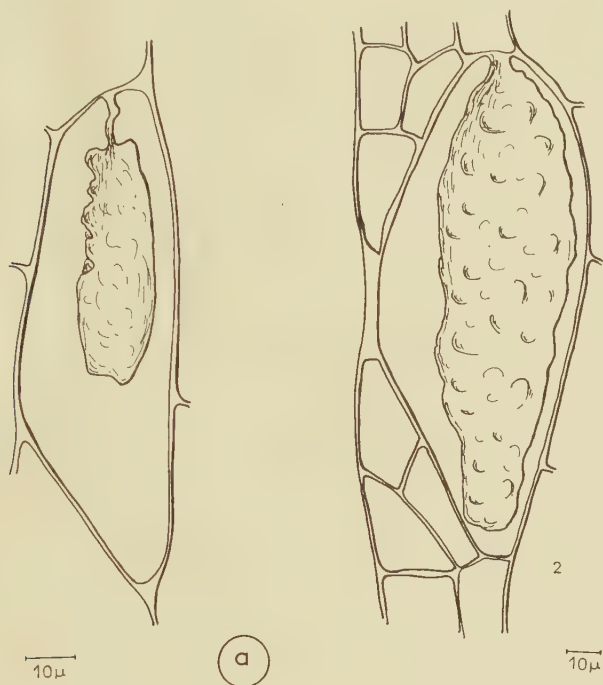


Fig. 5. — Différents aspects de cystolithes allongés.

a) Type *Ruellia* : 1, *Ruellia strepens* (tige hypocotylée) ; 2, *Beloperone pulchella* (Tige). — b) Type *Pilea* : *Pilea cadieri* (capuchon stipulaire).

la première (type *Ruellia*) ont toujours une de leurs extrémités plus ou moins émoussée. C'est à cet emplacement que se trouve fixé le pédicelle. Les cystolithes de la deuxième catégorie (type *Pilea*) ont, au contraire, des extrémités effilées. De plus, les corps cystolithiques sont, en général, parallèles à la surface des organes qui les contiennent (1). Il s'ensuit que le point d'attache du pédicelle, en particulier dans les cystolithes épidermiques foliaires et les cystolithes des tiges, se trouve placé sur une des parois radiales des lithocystes pour ceux du type *Ruellia*, et sur une paroi longitudinale, la paroi longitudinale externe, pour ceux du type *Pilea*. Mais ces caractères plus ou moins marqués ne permettent pas de diagnostic sûr. Il faut, pour différencier les deux types de cystolithes d'une façon certaine, observer des stades jeunes qui permettent de repérer les pédicelles.

C. — Épaississements calcaires en amas

Ils constituent un terme de passage entre les dépôts calco-cellulosiques très fréquents dans les cellules végétales et les cystolithes vrais.

La figure 6 montre de telles formations chez diverses Borraginacées. On remarquera que, dans tous les cas, la calcification se fait non pas dans des cellules isolées mais dans plusieurs cellules adjacentes, de telle sorte qu'il semble y avoir communication entre le calcaire des différentes cellules voisines. Aussi ne voit-on pas de corps cystolithiques distincts des membranes cellulaires comme dans les vrais cystolithes tels qu'ils ont été décrits. Néanmoins, dans le cas du *Cerithe major* par exemple, certaines colorations faites après décalcification ou sur des organes jeunes permettent de distinguer une zone plus intensément colorée que le reste de l'épaississement, et que l'on peut considérer comme l'équivalent d'un pédicelle court de cystolithe (fig. 6 d). Pour cette raison, et par suite d'un grand nombre d'autres particularités, comme nous le verrons dans la suite de ce travail, on peut les considérer comme proches des cystolithes.

II. — REPARTITION DES CYSTOLITHES

Elle sera successivement étudiée dans les diverses familles végétales puis dans les organes et les tissus.

(1) Une seule exception concerne les cystolithes du type *Ruellia*, différenciés dans les cellules allongées du parenchyme palissadique de certaines Acanthacées, qui sont alors perpendiculaires à la surface foliaire. Ex. : *Adhatoda vasica*.

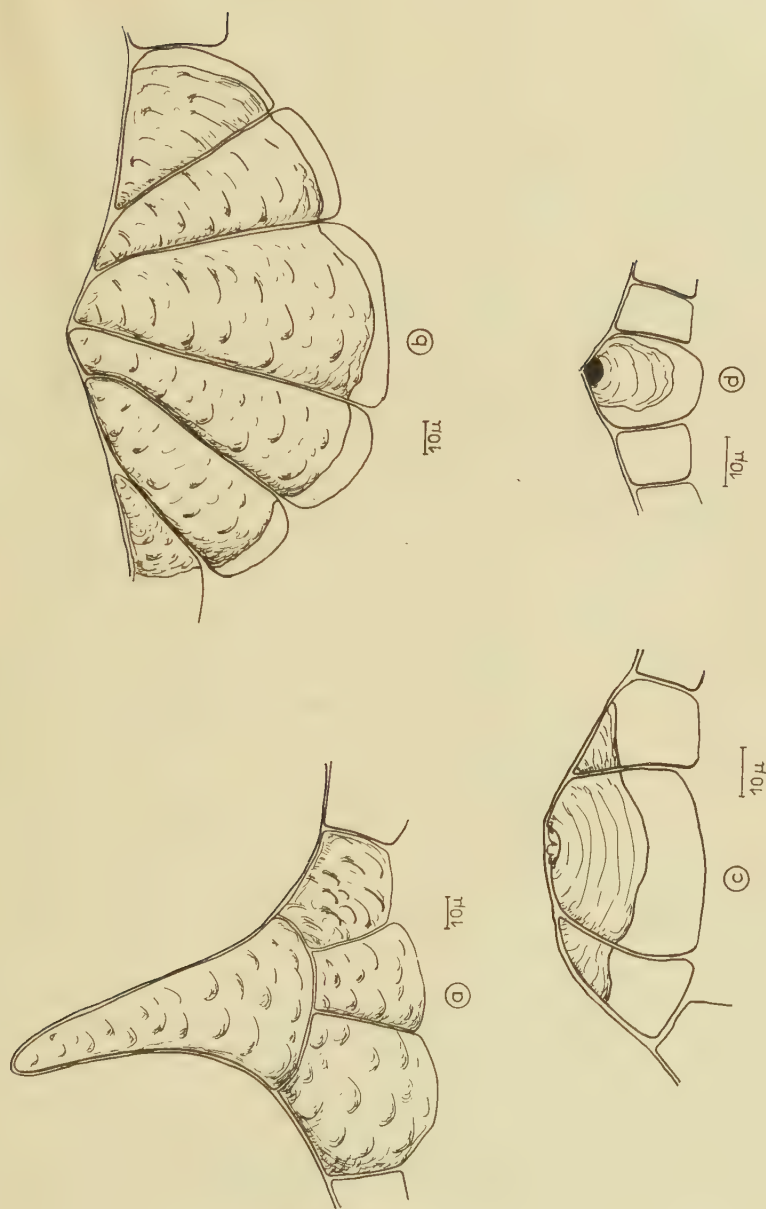


Fig. 6. — Dépôts calcaires en amas.

a) *Cynoglossum officinale* ; b, c, d) *Cerinth major*.

On voit en c un rudiment de pédicelle (p). De même la coupe d traitée par l'hématoxyline présente une zone fortement colorée, qui peut être considérée comme l'équivalent d'un pédicelle.

A. — Répartition dans les différentes familles végétales

Pour compléter les études faites par nos prédécesseurs, nous avons examiné un certain nombre de représentants des familles signalées par eux ou par SOLEREDER (1899) et METCALFE et coll. (1950) dans leurs traités d'Anatomie.

— Nous avons trouvé des cystolithes dans tous les Végétaux observés parmi les Urticacées, Moracées, Cannabinacées.

— Par contre, les Acanthacées de nos régions (*Thunbergia alata*, *Acanthus mollis*, *A. spinosus*) sont dépourvues de cystolithes. Exception faite pour le genre *Crossandra*, toutes les Acanthacées tropicales examinées contiennent ces formations en abondance.

— Parmi les Ulmacées, le genre *Celtis* (*orientalis* et *occidentalis*) renferme également des cystolithes, mais l'*Ulmus campestris* et le *Planera crenata* ne présentent aucun corps calcifié.

— Les Borriginacées observées renferment des cystolithes vrais ou des formations voisines du type des dépôts calcaires en amas.

— Nous n'avons jamais trouvé de véritables cystolithes chez les Cucurbitacées observées, mais des épaississements calcaires situés à la base de poils pluricellulaires. Cependant, PENZIG (1881) en signale chez le *Momordica echinata* et le *M. charantia* (nous n'avons pu nous procurer ces plantes). Chez les Loasacées et les Verbénacées, l'aspect est un peu différent. La concrétion calcaire occupe toute la partie supérieure du poil et fait hernie dans la partie basale élargie. Ici, on ne distingue absolument pas de pédicelle (fig. 7). Parce que ces formations ne présentent pas de corps cystolithique distinct et bien localisé à l'intérieur de la cellule et qu'un pédicelle n'est jamais visible, nous ne pouvons pas les classer parmi les cystolithes.

— Parmi les représentants des Combrétacées examinées, nous avons trouvé chez le *Combretum micranthum*, le *Terminalia catappa* et le *T. australis* des formations ressemblant à des cystolithes sphériques, mais ce ne sont que d'énormes oursins d'oxalate de calcium. De plus, nos observations sur le *Quisqualis indica* et l'*Anogeissus shimperi* nous ont montré simplement des poils fortement silicatés n'ayant aucune relation avec des cystolithes. Leur étude a donné lieu à une note parue antérieurement (PIREYRE 1953).

— Les diverses espèces observées jusqu'à présent parmi les Bégoniacées, Campanulacées, Cistacées, Scrophulariacées, Gesnériacées, nous ont paru dépourvues de cystolithes.

— Enfin, nous avons trouvé des formations ressemblant à des cystolithes dans le thalle d'une Algue rouge : *Peyssonnelia rubra* (J. Ag.) qui

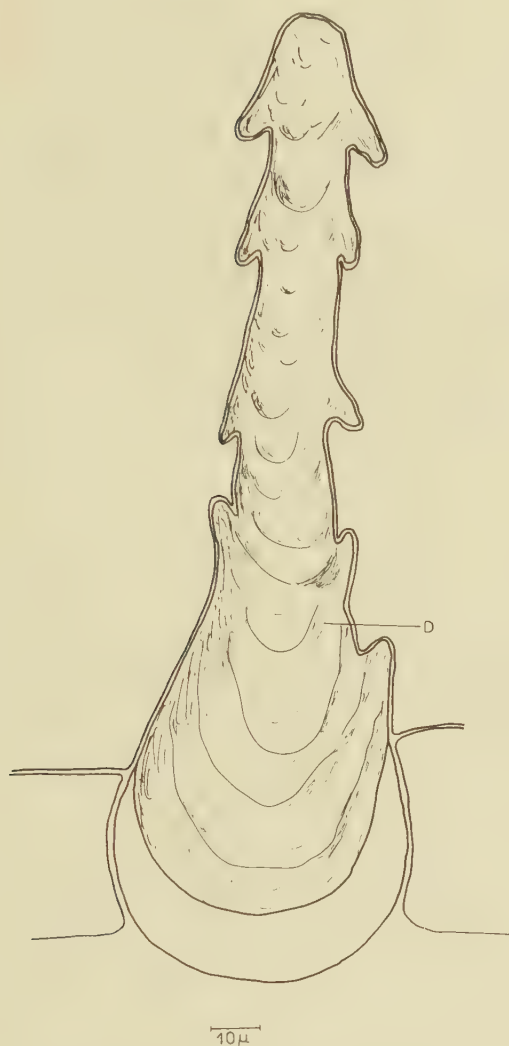


Fig. 7. — Poil calcaire de *Loasa aurantiaca* (Loasacée).

Ces formations ne peuvent être classées dans les cystolithes, car on ne distingue pas de pédicelle ni de corps cystolithique nettement différencié.

D = Dépôt calco-cellulosique.

appartient à la famille des Squamariacées (Cryptonémiales) (fig. 8). PETERSEN, qui les signala le premier, avait observé qu'elles disparaissent par action de l'acide acétique sans faire effervescence. Il n'émettait aucune hypothèse sur leur nature et les nommait simplement « Cellules glandu-

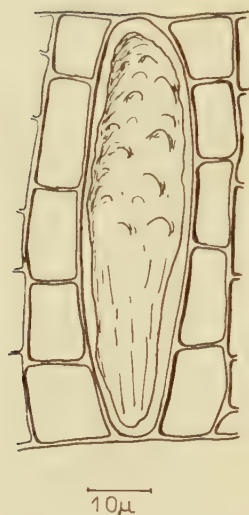


Fig. 8. — Cystolithe de *Peyssonnelia rubra* (Cryptonémiale-Squamariacée).

lares » (1918). Ces mêmes cellules, signalées dernièrement par FELDMANN (1939), furent classées par lui dans les cellules sécrétrices (1944). Le manque d'effervescence, par action de l'acide acétique, interdisait en effet de conclure à la présence de carbonate de calcium. Or, nous avons réussi à obtenir cette effervescence en mettant quelques-unes de ces formations, isolées au micromanipulateur, entre lame et lamelle et en faisant passer l'acide acétique sous la lamelle. Sans doute, la viscosité du cytoplasme, en ralentissant le transfert du CO_2 , en masque le dégagement lorsque les réactions sont faites sur des coupes.

D'autres études, nous le verrons, vont nous permettre de faire un rapprochement entre ces formations et les cystolithes des Végétaux supérieurs.

B. — Répartition des cystolithes dans les différents organes végétaux

Suivant les Végétaux, les cystolithes peuvent être localisés :

— Dans les feuilles seules : Exemples : *Parietaria officinalis*, *Ficus elastica*, *F. sycomorus*, etc... Les cystolithes, en nombre important dans le limbe, deviennent moins abondants aux abords du pétiole, et manquent dans cet organe. Ils font complètement défaut également dans les tiges et les racines.

— Dans les feuilles et les tiges : Exemple : *Pilea cadieri*, *Elatostema sessile*, etc... Les cystolithes, très nombreux dans les feuilles, se trouvent également en abondance dans les tiges, mais font complètement défaut dans les organes souterrains.

— Dans les feuilles, les tiges et les racines : Exemple : *Ruellia strepens*, *Pseuderanthemum velutinum*, etc... Les cystolithes, très nombreux, sont en général plus volumineux dans les tiges que dans les racines.

On peut également trouver des cystolithes dans d'autres organes tels que :

— Les cotylédons. Nous en avons trouvé dans tous les cas étudiés.

— Les capuchons stipulaires caducs. Suivant les plantes, ces organes en possèdent (*Pilea*) ou en sont dépourvus (*Ficus*).

— Les fleurs, enfin. Notons l'existence de cystolithes dans le calice et les bractées du *Ruellia strepens*.

C. — Répartition des cystolithes dans les différents tissus végétaux

CHAREYRE (1884) signale que les cystolithes peuvent exister dans n'importe quel tissu, exception faite des vaisseaux. En réalité, au cours de nos observations, nous en avons surtout trouvé dans les épidermes et les parenchymes corticaux et médullaires et très rarement dans le collenchyme.

1) Localisation épidermique.

Dans les feuilles, les cystolithes sont en général épidermiques. Parfois ils se trouvent dans les deux épidermes, supérieur et inférieur (*Ficus elastica*, *Pilea cadieri*, *Broussonetia papyrifera*, etc...). D'autres fois, seul l'épiderme inférieur (*Momordica echinata* selon PENZIG 1881, *Ficus carica*, etc...), ou l'épiderme supérieur (*Parietaria officinalis*, *Pellionia argentea*, etc...), en est pourvu.

Notons que les cystolithes épidermiques foliaires deviennent moins nombreux au voisinage des grosses nervures et manquent généralement à l'emplacement de celles-ci.

L'épiderme des tiges jeunes peut également renfermer des cystolithes qui sont éliminés à la formation de la zone subéro-phellodermique.

2) Localisation parenchymateuse.

Elle se rencontre assez rarement dans les feuilles. Exemple : mésophylle du *Fittonia argyryroneura*, du *Jacobinia alba*.

Elle est très fréquente dans les racines et les tiges. Exemple : parenchyme cortical externe des tiges et des racines du *Fittonia gigantea*, parenchyme médullaire ou cortical du *Ruellia strepens*.

3) Localisation collenchymateuse.

Lorsque le parenchyme devient collenchymateux, on trouve encore quelques cystolithes, mais ils ne sont jamais nombreux et sont surtout localisés dans la zone intermédiaire entre le collenchyme et le parenchyme. Chez l'*Adhatoda vasica* cependant, ce tissu est assez riche en cystolithes.

III. — RAPPORT ENTRE LA FORME DES CYSTOLITHES ET LEUR REPARTITION DANS LES DIFFERENTS ORGANES ET TISSUS

Il semble qu'il y ait un rapport entre les différentes formes de cystolithes et leur répartition à l'intérieur des Végétaux.

A. — Cystolithes globuleux

Dans toutes les observations faites jusqu'à présent, ils se trouvent localisés dans les épidermes foliaires mais jamais dans les tiges ni les racines.

B. — Cystolithes allongés

Ils sont en général plus amplement répartis.

— Les cystolithes type *Ruellia* peuvent se trouver dans tous les organes aériens et souterrains, dans les épidermes, les parenchymes et le collenchyme.

— Les cystolithes type *Pilea* se rencontrent dans les épidermes foliaires, dans l'épiderme ou la couche sous-épidermique des tiges. Au cours de nos observations, nous n'en avons pas trouvé dans les racines.

C. — Dépôts calcaires en amas

Ils sont toujours épidermiques et se trouvent dans les feuilles et les tiges herbacées.

IV. — RAPPORT ENTRE LA FORME DES CYSTOLITHES ET LEUR REPARTITION A L'INTERIEUR DES DIFFERENTES FAMILLES VEGETALES

Les nombreux Végétaux observés et les renseignements bibliographiques recueillis permettent de constater que les cystolithes d'une famille déterminée sont, en général, de forme comparable. Afin de vérifier cette constatation, nous avons groupé nos observations et celles de nos prédécesseurs en classant les cystolithes dans les familles et, à l'intérieur de celles-ci, dans les diverses tribus qu'elles renferment.

A. — Famille des Urticacées

1) CAS GÉNÉRAL

Les cystolithes sont en général globuleux et localisés dans l'épiderme foliaire supérieur.

2) EXCEPTIONS

Parmi les représentants observés :

Le *Pilea cadieri*, l'*Elatostema sessile*, ont des cystolithes fusiformes, à pédicelle perpendiculaire à la concrétion (type *Pilea*), localisés dans les deux épidermes foliaires et le parenchyme sous-épidermique des tiges.

Le *Pellionia (pulchra, argentea et daveauana)*, le *Myriocarpa cordifolia*, ont des cystolithes type *Pilea*, mais localisés dans l'épiderme foliaire seulement.

Notons que le *Myriocarpa* appartient à la tribu des Boehmériées mais tous les autres représentants sont des Procridéés.

BIGALKE (1933) signale également des cystolithes allongés dans plusieurs genres, à savoir :

— *Achudemia*, *Lecanthus* et *Procris*, également de la tribu des Procridéés ;

— *Fleurya* de la tribu des Urérées ;

— *Touchardia*, de la tribu des Boehmériées.

Cette anomalie à l'intérieur d'une famille est très curieuse. Une observation s'impose cependant. Tous les cystolithes fusiformes que nous avons pu observer dans les Urticacées appartiennent au type *Pilea*. Or les cystolithes de ce type, malgré leur forme, peuvent être rapprochés des cystolithes globuleux. Leur pédicelle est, en effet, perpendiculaire à l'axe de

la concrétion et prend naissance, comme celui des cystolithes globuleux, sur la paroi longitudinale externe d'une cellule épidermique ou sous-épidermique. Si leur forme très allongée, et leur répartition plus étendue dans les tissus et les organes des plantes, ne permettent pas de les rattacher au type globuleux, l'emplacement du pédicelle peut les faire considérer comme des intermédiaires entre ce type et le type *Ruellia*.

B. — Famille des Moracées

1) CAS GÉNÉRAL

Les cystolithes sont du type globuleux et sont localisés soit seulement dans l'épiderme supérieur (*Morus alba*, *M. nigra*, *Ficus religiosa*), soit dans l'épiderme inférieur (*Ficus erecta*, *F. carica*, *F. repens*), soit dans les deux épidermes (*Ficus elastica*, *F. sycomorus*, *F. bengalensis*, *Broussonetia papyrifera*).

Il ne semble pas que cette distribution des cystolithes dans l'un ou l'autre des épidermes ait un rapport avec les caractères systématiques puisque des espèces d'un même genre (*Ficus*) peuvent avoir leurs cystolithes répartis, soit dans un, soit dans les deux épidermes.

De plus, à l'intérieur de chaque tribu, les cystolithes de certains représentants prennent naissance dans des poils plus ou moins développés (*Broussonetia papyrifera*, *Ficus sycomorus* : cf. fig. 4).

2) EXCEPTIONS

Le genre *Artocarpus*, d'après SATAKE (1931) qui a étudié des spodogrammes de feuilles entières, ne renfermerait pas de cystolithes. Pour notre part, nous n'en avons pas trouvé chez l'*Artocarpus integrifolia*. Cependant, METCALFE et coll. (1950) signalent des structures ressemblant à ces formations sur les parois des poils foliaires de ce genre, mais ils ne signalent pas sur quelle espèce les observations ont été faites.

Il ne nous a pas été possible non plus de trouver de cystolithes chez le *Dorstenia vohrensi*.

C. — Famille des Cannabinacées

1) CAS GÉNÉRAL

Les cystolithes sont du type globuleux et situés dans des poils courts, répartis dans l'épiderme supérieur des feuilles. De plus, chez l'*Humulus lupulus*, certaines cellules à la base des poils se calcifient bien souvent et constituent ainsi une nouvelle formation de dépôts calcaires en amas.

2) EXCEPTIONS

Le nombre des genres dans cette famille étant très restreint (deux), il n'y a pas d'exception ni de forme, ni de présence.

D. — Famille des Ulmacées

1) CAS GÉNÉRAL

Les cystolithes sont du type globuleux. Aucun auteur ne parle de leur répartition dans les différents tissus et organes. Nos observations sur le *Celtis orientalis* et le *C. occidentalis* permettent de dire que ce sont des cystolithes épidermiques foliaires. Dans la tribu des Celtidoïdées, outre les deux espèces mentionnées, ENGLER signale des cystolithes chez le *Pteroultis* (1895) et SATAKE chez le *Trema* (1931).

2) EXCEPTIONS

SATAKE signale que deux genres de Celtidoïdées (*Aphenanthe* et *Zelkova*) sont dépourvus de cystolithes. Mais, selon METCALFE (1950), ils possèdent des poils pourvus de verrues calcifiées.

Les espèces des genres *Ulmus* et *Planera*, qui appartiennent à la tribu des Ulmoïdées, sont totalement dépourvues de cystolithes.

E. — Famille des Acanthacées

Tous les auteurs qui ont étudié les représentants de cette famille (HOBEIN, 1884 ; DETHAN, 1896 ; BENOIST, 1912) ont adopté la classification de BENTHAM et HOOKER (1876). Nous suivrons donc cette dernière, contrairement à ce que nous avons fait pour les autres familles. Nous reviendrons cependant sur la classification de ENGLER et PRANTL (1895) selon LINDAU (1894), afin de voir si elle ne permet pas d'éliminer certaines des exceptions mentionnées.

1) CAS GÉNÉRAL

Les cystolithes sont allongés et du type *Ruellia*. L'emplacement du pédicelle, dans ce type, est beaucoup moins facile à déterminer que dans les autres catégories de cystolithes et aucun des auteurs qui nous ont précédé ne l'a observé avec précision. Cependant, dans tous les cas examinés par nous, il est dans le prolongement du corps cystolithique, donc bien du type *Ruellia*.

— Dans la tribu des *Ruellées*, les représentants que nous avons pu nous procurer, et qui sont classés par ENGLER dans la tribu des *Acanthoïdées contortées*, possèdent tous des cystolithes, aussi bien dans leurs organes aériens que souterrains. Dans les feuilles, ils sont uniquement épidermiques tandis qu'ils sont très largement représentés dans les différents tissus parenchymateux des tiges et des racines, surtout dans l'hypoderme et le parenchyme cortical.

DETHAN signale, cependant, l'absence de cystolithes dans les racines d'*Hygrophyla hispida*.

Enfin, HOBEIN mentionne que, chez les genres *Stenosiphonium*, *Tricanthera*, *Sanchezia* et *Ruellia*, les cystolithes sont répartis dans « tous les tissus ». Cette observation n'a pu être vérifiée que pour le genre *Ruellia* chez lequel nous n'avons jamais trouvé de cystolithes en dehors des tissus parenchymateux des tiges et des racines, et des épidermes foliaires.

— Parmi les représentants examinés dans la tribu des *Justiciées*, les cystolithes se trouvent dans les feuilles et les tiges. Mais, à l'exception du *Pseuderanthemum velutinum* et du *Fittonia argyroneura*, les racines n'en renferment pas. Leur répartition dans les tissus est également plus restreinte que dans la tribu des *Ruellées*. Dans les feuilles, les cystolithes sont en général épidermiques. Cependant, chez le *Fittonia argyroneura*, le *F. gigantea*, le *Jacobinia alba* et l'*Adhatoda vasica*, ils sont répartis dans le mésophylle, et plus particulièrement dans le parenchyme palissadique pour les deux derniers. Les cystolithes des tiges sont également épidermiques ou sous-épidermiques, sauf chez le *Fittonia argyroneura* et le *Fittonia gigantea* où ils sont parenchymateux.

Lorsqu'ils existent dans les racines, les cystolithes sont répartis dans les assises les plus externes du parenchyme cortical.

— Certaines caractéristiques se trouvent également à l'intérieur des sous-tribus des *Justiciées*. Ainsi BENOIST, dans ses études sur les *Barlériées*, signale que : « Dans les tiges, les cystolithes sont tout d'abord épidermiques, puis disparaissent au fur et à mesure que l'assise sous-épidermique évolue en assise subérophellodermique. A ce moment, de nombreux cystolithes prennent naissance dans l'assise parenchymateuse située juste au-dessous du phelloderme ». Il dit, de plus, que dans cette sous-tribu les cystolithes sont souvent rapprochés deux à deux dans les organes où ils se trouvent. Nous avons rencontré, en effet, de telles formations chez le *Barleria cristata*. Notons qu'on en rencontre également (mais assez rarement) dans le genre *Ruellia* (fig. 9).

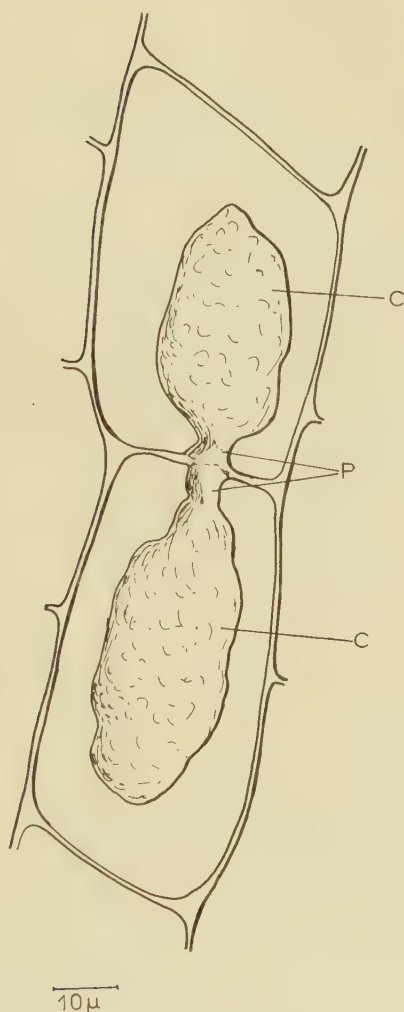


Fig. 9. — Cystolithe double d'une tige hypocotylée de *Ruellia strepens* (Acanthacée-Ruellée).

2) EXCEPTIONS

a) De forme.

— Dans la tribu des *Ruellées*, HOBEIN signale que les cystolithes du genre *Sanchezia* sont pointus aux deux extrémités, ce qui laisse supposer qu'ils sont du type *Pilea*. Signalons que ce genre a été mis pendant long-

temps dans la famille des Scrophulariacées, ce qui indique qu'il a des caractéristiques permettant de le différencier des autres Acanthacées.

— Dans la tribu des *Justiciées*, ce même auteur signale que le genre *Rostellularia* possède des cystolithes pointus aux deux extrémités comme dans le *Sanchezia*. De plus, dans les sous-tribus des *Asystasiées*, *Pseudéranthemées* et *Justiciées*, il observe des cystolithes « ronds à oblongs ». De tels cystolithes sont cités pour les genres *Asystasia* et *Pseuderanthemum* que nous avons pu nous procurer. Or, nos observations nous ont conduite à la conclusion que les cystolithes sont simplement un peu moins allongés que ceux des genres précédents, mais ils ressemblent tout à fait à ceux que nous avons pu voir dans le *Ruellia strepens*. Ainsi, l'étude des stades jeunes nous montre que le pédicelle, ici, comme dans les autres Acanthacées examinées, se trouve dans le sens de l'allongement du corps cystolithique. Les cystolithes sont, en outre, parallèles à l'axe des tiges et des racines et à la surface des feuilles. Il s'ensuit que leur point d'attache est situé sur l'une des membranes cellulaires radiales du lithocyste qui les contient, et non sur la membrane longitudinale externe comme les cystolithes globuleux. Aussi pouvons-nous penser qu'il en est de même pour les autres cas étudiés par HOBEIN.

b) De présence.

L'étude des différents travaux montre que trois tribus sont totalement dépourvues de cystolithes, à savoir : les *Thunbergiées*, *Nelsoniées* et *Acanthées*. Nous avons déjà mentionné, en effet, que les trois représentants communs dans nos régions : *Thunbergia alata*, *Acanthus mollis*, *A. spinosus* en sont dépourvus. HOBEIN signale que le genre *Stenandrium*, de la sous-tribu des *Asystasiées*, et les genres « *Aphelandra* (avec *Strobilohachis* et *Lagochilium*) » ainsi que « *Geissmora* avec (*Salpixinthe*) », de la sous-tribu des *Eujusticiées*, n'ont pas de cystolithes. Il en est ainsi pour l'*Aphelandra pectinata* examiné. Mais si nous adoptons la classification de ENGLER selon LINDAU et non celle de BENTHAM et HOOKER (1876) comme l'a fait HOBEIN, nous trouvons que ces trois genres sont rassemblés dans la sous-tribu des *Aphelandrées* à côté des *Acanthées*, également sans cystolithes.

F. — Famille des Borraginacées

1) CAS GÉNÉRAL

— Dans la tribu des *Heliotropioïdées* de ENGLER, les représentants récoltés possèdent des cystolithes rudimentaires dans les poils foliaires : *Heliotropium europaeum*, *Tournefortia heliotropioides* (fig. 10).

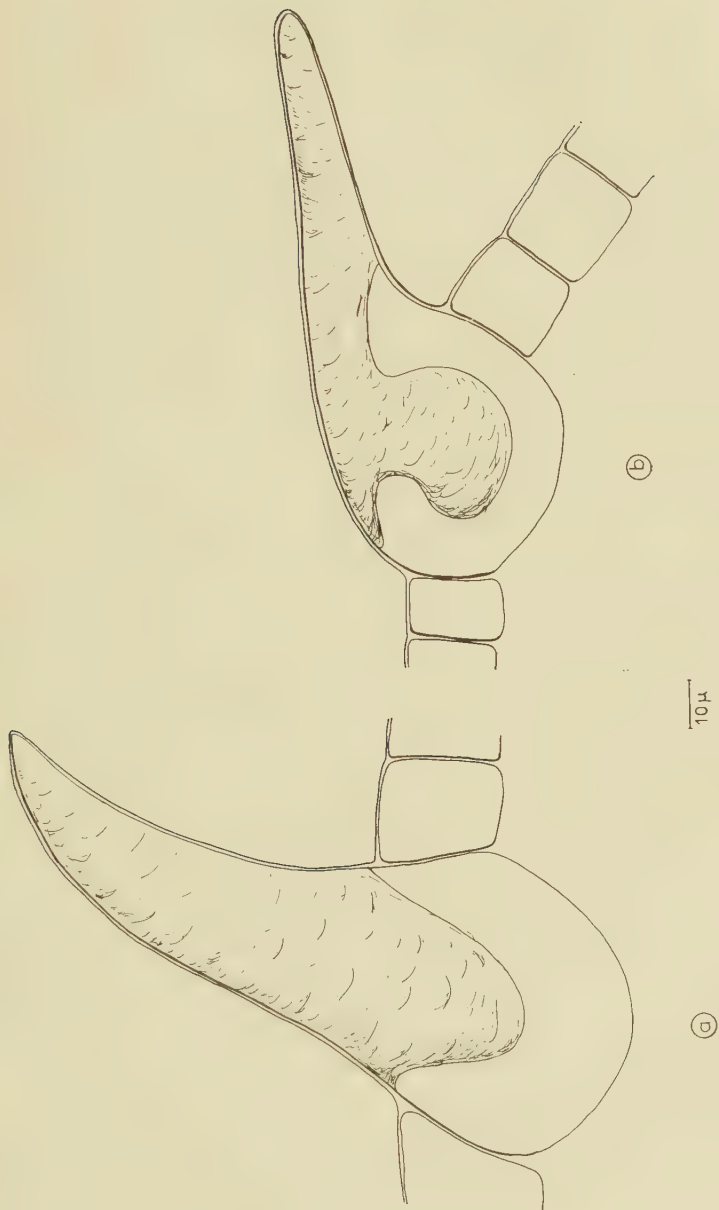


Fig. 10. — Cystolithes rudimentaires de *Tournefortia heliotropioides* (Borraginacée-Héliotropioidée).

La figure a ressemble à un poil calcaire simple mais en b, on distingue un corps cystolithique net.

— VESQUE cite également des cystolithes rudimentaires dans les poils du genre *Cordia*, de la tribu des Cordioïdées (1875).

2) EXCEPTIONS

— Dans la tribu des *Borraginoïdées*, nous avons trouvé des poils calcaires et des épaississements cystolithiques en amas à la base de ceux-ci.

— Dans le *Cerithe major* et le *Cerithe minor*, cependant, l'épiderme est dépourvu de poils calcaires mais possède également des dépôts calcaires en amas que nous avons pu rapprocher, nous l'avons vu, des véritables cystolithes.

Toutes ces formations sont présentes dans les épidermes foliaires. On trouve cependant quelques dépôts calcaires en amas dans les tiges mais jamais dans les racines.

G. — Famille des Cucurbitacées

Nous avons déjà dit que les représentants observés renfermaient des concrétions calcaires bien plus que de véritables cystolithes.

Cependant, PENZIG signale des groupes de cystolithes dans le *Momordica charantia* et des cystolithes disposés par paires, comme ceux des Barlériées, chez le *Momordica echinata*. Il indique, de plus, qu'ils sont présents seulement dans l'épiderme inférieur des feuilles (1881).

H. — Famille des Opiliacées

(Famille mise par ENGLER dans les Olacacées)

Nous n'avons pas pu nous procurer d'échantillons, mais VAN TIEGHEM (1893) cite dans cette famille des cystolithes semblables à ceux des Cucurbitacées observés par PENZIG. Ils seraient présents dans les tiges et les feuilles. Aucune observation ne semble avoir été faite sur les racines.

I. — Famille des Hernandiacées

Nous n'avons observé que l'*Hernandia sonora* qui n'a pas de cystolithes. Mais les genres *Sparanthelium* et *Gyrocarpus*, mis par BENTHAM et HOOKER (1876), SOLEREDER (1885) et KOHL (1889) dans les Combrétacées, auraient, selon KOHL, des cystolithes de formes irrégulières dans lesquels il y a peu ou même pas du tout de carbonate de calcium.

V. — DISCUSSION

Au cours de ce chapitre, nous nous sommes efforcée d'établir une classification des cystolithes en nous basant non seulement sur leur aspect morphologique plus ou moins fluctuant, mais sur leur structure propre et leur répartition dans les divers organes végétaux. Dans le cadre de cette nouvelle classification, nous avons cherché à mettre en évidence la valeur des cystolithes comme caractère systématique.

Rappelons que les classifications anciennes comprenaient de très nombreux types de cystolithes : les cystolithes ronds, piriformes, localisés dans les poils, oblongs, ovales, fusiformes (avec une seule extrémité pointue, les deux extrémités pointues ou les deux extrémités émoussées), vermiformes.

Nous avons réuni ces divers types en 3 catégories :

— *Les cystolithes globuleux dont l'axe est perpendiculaire à la surface de l'organe qui les renferme.* Cette catégorie comprend les anciens types ronds, piriformes et localisés dans les poils.

— *Les cystolithes fusiformes dont le pédicelle est dans le prolongement de l'axe du corps cystolithique (Type Ruellia).* Ils comprennent les anciens types oblongs, ovales, vermiformes et vraisemblablement une grande partie des anciens cystolithes fusiformes, en particulier ceux à une extrémité émoussée.

— *Les cystolithes fusiformes dont le pédicelle est perpendiculaire au corps cystolithique (Type Pilea).* Ils comprennent les anciens cystolithes fusiformes aux deux extrémités pointues, et probablement une partie de ceux aux deux extrémités émoussées ainsi que des cystolithes dits vermiformes.

Nous ne tenons pas compte, dans cette classification, des dépôts calcaires en amas, que nous considérons comme des intermédiaires entre les cystolithes vrais et les membranes fortement calcifiées.

Ce n'est pas par un unique souci de simplification que nous avons adopté ce classement, mais pour diverses raisons que nous allons exposer.

Tout d'abord remarquons qu'il existe tous les intermédiaires entre les divers types de cystolithes globuleux. Dans le *Ficus elastica* par exemple, on peut en trouver des ronds, très voisins de ceux de la Pariétaire, ou de beaucoup plus allongés (fig. 11). De même, dans d'autres espèces, on observe tous les intermédiaires entre les cystolithes issus de poils et ceux provenant d'une simple cellule épidermique (fig. 12).

Avec l'ancienne classification, les cystolithes à pointe émoussée voisinaient avec les cystolithes aux deux extrémités pointues, et la différenciation de ces deux catégories était peu nette. L'emplacement du pédicelle par rapport au corps calcifié permet, au contraire, de faire une distinction

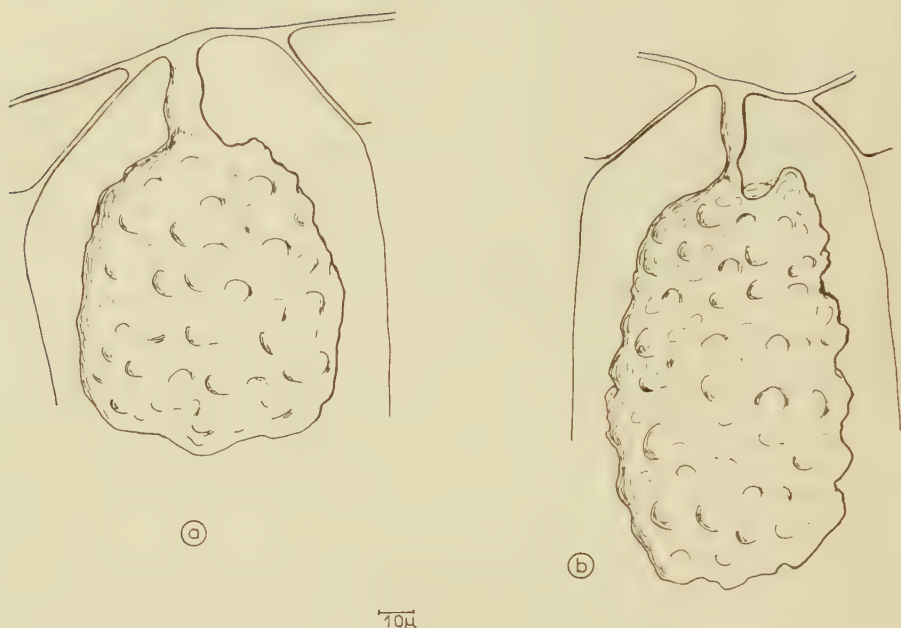


Fig. 11. — Cystolithes de *Ficus elastica*.

Les cystolithes de ce Végétal peuvent avoir des aspects morphologiques variés : certains peuvent être très arrondis (a) ou beaucoup plus allongés (b).

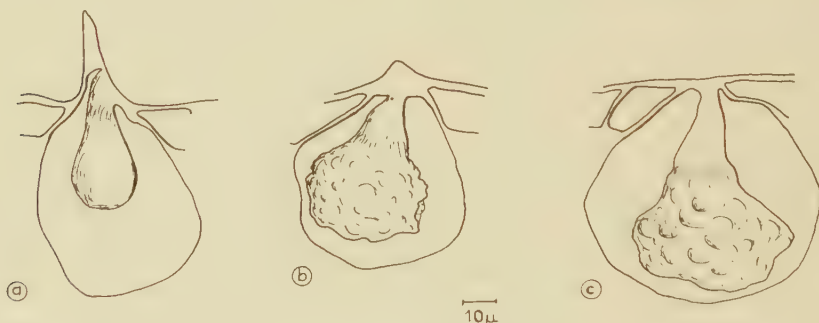


Fig. 12. — Cystolithes de *Ficus sycomorus*.

Dans ce Végétal, il existe tous les intermédiaires entre les cystolithes issus de poils (a) et ceux provenant d'une simple cellule épidermique (c).

valable entre les cystolithes du type *Pilea* et ceux du type *Ruellia*. Ceci nous a permis d'établir un lien entre des cystolithes d'aspect différent de deux tribus voisines d'une même famille. Ainsi, dans les Urticacées, nous

avons pu rapprocher ceux des *Pilea*, *Pellionia*, *Elatostema*, *Myriocarpa* des cystolithes globuleux, en montrant que le pédicelle prend naissance, dans tous les cas, sur la paroi longitudinale externe d'une cellule épidermique ou sous-épidermique.

De même, dans les Acanthacées, certains cystolithes ont été qualifiés de « cystolithes ronds à oblongs ». Or, nous avons vu que, dans le cas du *Pseuderanthemum velutinum* et de l'*Asystasia bella*, ils sont en fait semblables à ceux du *Ruellia strepens*, en ce que leur pédicelle prend naissance sur une des membranes radiales des lithocystes, mais qu'ils sont simplement moins allongés.

Enfin, la nouvelle classification établie tient compte de l'emplacement des cystolithes dans les organes :

— Les cystolithes réunis dans le type *globuleux* sont toujours épidermiques et localisés uniquement dans les feuilles.

— Les cystolithes fusiformes type *Pilea* ont été trouvés dans les feuilles et les tiges mais jamais dans les racines.

— Les cystolithes fusiformes type *Ruellia* ont une répartition beaucoup plus générale et peuvent exister dans les racines. De même leur localisation est plus vaste et ils apparaissent aussi bien dans les épidermes que dans les parenchymes et les collenchymes.

Ayant établi une classification nouvelle des cystolithes, nous avons cherché à coordonner nos résultats avec ceux de nos prédécesseurs, afin d'étudier les rapports des cystolithes avec la systématique des plantes. Ainsi, nous avons pu montrer que la présence ou l'absence de cystolithes peut permettre de résoudre un problème de classification. Nous avons vu, en effet, que les cystolithes ne sont pas constants à l'intérieur des familles et, souvent, des tribus entières ou, à l'intérieur des tribus, quelques genres peuvent ne pas posséder de formations cystolithiques. C'est le cas pour les Acanthacées. Dans cette famille, l'*Aphelandra* et le *Geissmora* n'ont pas de cystolithes contrairement aux autres Euphorbiacées, ni le *Stenandrium* contrairement aux autres Asystasiées. Mais cette absence de cystolithes correspond à des affinités systématiques de ces trois genres, puisque LINDAU (1894), en se basant sur d'autres caractères, les a placés dans la même sous-tribu, celle des Aphélandrées, à côté des Acanthées, également sans cystolithes.

Pour résumer tout ce qui vient d'être exposé, et pour souligner l'importance systématique des cystolithes, nous avons établi un tableau général (Tabl. VI) montrant les rapports qui existent entre leur forme et leur répartition à l'intérieur des différents tissus et organes des familles qui les renferment.

Notons que nous n'avons pas inclus dans ce tableau les cystolithes du *Peyssonnelia rubra*. Leur présence dans une Algue est un fait unique qui ne permet donc, jusqu'à maintenant, aucune comparaison avec les autres

Végétaux inférieurs. Elle nous permet de supposer, cependant, que la répartition des cystolithes est plus vaste que nous ne le pensions, et constitue ainsi un point de départ pour de nouvelles recherches.

TABLEAU VI

Formes et répartition des cystolithes dans les différentes familles végétales

Forme des cystolithes		Familles	Tribus selon la classification de ENGLER	Répartition	
				Organes	Tissus
Cystolithes globuleux	Vrais	URTICACEES	Urérées Boémériées Pariétariées Forskohloées	Feuilles	Epiderme supérieur
		MORACEES	Moroïdées Broussonetiées Ficées	Feuilles	Epidermes
		CANNABINACEES		Feuilles	Epidermes
		ULMACEES	Celtidoïdées	Feuilles	Epidermes
	Rudimen- -taires	BORRAGINACEES	Héliotropioïdées Cordioïdées	Feuilles	Epidermes
Cystolithes allongés	Type Pilea	URTICACEES	Procridéées	Feuilles	Epidermes
				Tiges	Epidermes et assises sous épidermiques
	Type Ruellia	ACANTHACEES	Acanthoïdées contortées	Feuilles	Epidermes
				Tiges Racines	Tous les parenchymes
			Acanthoïdées imbric- -catées sauf les sous tribus des Acanthées et des Aphélandrées.	Feuilles	Epidermes ou dans quelques cas mésophylle
				Tiges	Parenchyme cortical
Cystolithes non observés mais existant selon les auteurs.		CUCURBITACEES		Feuilles	Epidermes
		OPILIACEES		Tiges Feuilles	
		HERNANDIACEES			
Pas de cystolithes	Dépôts calcai- -res en amas	BORRAGINACEES	Borraginoïdées	Feuilles et très jeunes tiges	Epidermes
		MORACEES	Artocarpoidées Dorsténiées		
		ULMACEES	Ulmoïdées		
		ACANTHACEES	Thunbergioïdées Nelsionioïdées Acanthoïdées imbric- -catées sous tribu des Acanthées et des Aphélandrées		

CHAPITRE II

DEVELOPPEMENT DES CYSTOLITHES ET MODIFICATIONS CELLULAIRES QUI L'ACCOMPAGNENT

L'étude du développement des cystolithes a porté sur différents types appartenant à des familles diverses. Nous traiterons successivement de l'évolution des cystolithes globuleux puis des cystolithes allongés. Nous y ajouterons celle des cystolithes du *Peyssonnelia rubra*, très voisins du type globuleux, bien qu'appartenant au groupe des Algues. Pour terminer, enfin, nous considérerons un type de « Dépôts calcaires en amas » pour montrer qu'ils constituent bien un terme intermédiaire entre les cystolithes vrais et les concrétions calcaires diverses.

I. — CYSTOLITHES GLOBULEUX

A. — Cas du *Parietaria officinalis* L. (Urticacée)

Les cellules à cystolithes se différencient précocement des cellules épidermiques banales et c'est dans les très jeunes feuilles proches du bourgeon (la première feuille par exemple) qu'on peut observer les premiers stades de leur évolution. Les jeunes *lithocystes*, légèrement plus volumineux que les autres cellules épidermiques, présentent sur leur membrane cuticulaire un diverticule interne (fig. 13 *a*) : c'est le pédicelle du futur cystolithe. Il s'allonge tout d'abord, puis forme bientôt une petite massue terminale (fig. 13 *b* et *c*). Autour de cette extrémité renflée s'édifie peu à peu la trame, constituée de couches concentriques de substances membranaires très serrées aux abords du pédicelle, et sur lesquelles se dépose par la suite le carbonate de calcium (fig. 13 *d*, *e*, *f*). Dans les stades ultimes, le corps cystolithique, en forme de sphère, occupe à peu près tout le volume de la cellule qui le contient, et masque très souvent le pédicelle. La calcification, ici, se fait très tardivement sur une trame bien développée, mais qui n'a cependant pas atteint sa taille définitive (fig. 13 *g*).

On peut suivre l'évolution du protoplasme pendant la différenciation des cystolithes. On remarquera tout d'abord que le noyau du lithocyste, dont

l'enchylème est très coloré par la fuchsine, et qui paraît appartenir au type à prochromosomes, est légèrement plus volumineux que celui des cellules voisines. Pendant la croissance du pédicelle, ce noyau, d'abord central, se localise dans la partie inférieure de la cellule. Il ne subit pas de modifications notables pendant la vie du lithocyste quel que soit le stade d'évolution observé. Et même dans les cellules renfermant de très volumineux cystolithes, il demeure visible et garde une structure normale sans aucune trace de pycnose.

Le cytoplasme, dense dans les très jeunes lithocystes, renferme de nombreuses granulations colorées en noir par l'hématoxyline. Ces granulations correspondent à une mauvaise fixation du chondriome par le liquide de Zenker qui renferme de l'acide acétique. Elles permettent de constater que le cytoplasme entoure complètement le pédicelle et que la calcification se produit à son contact.

Afin de préciser les rapports cytoplasme-cystolithes, des plasmolyses, après coloration vitale au rouge neutre, ont été faites sur des lithocystes jeunes et adultes. Dans les jeunes stades, et au début de la calcification, on voit très nettement le cytoplasme se détacher peu à peu de la paroi cellulaire, puis du pédicelle et de son extrémité renflée. La vacuole, en se contractant, l'entraîne bientôt au fond du lithocyste. Nous sommes donc autorisée à conclure que les cystolithes des Pariétaires se forment indépendamment du système vacuolaire. Dans les stades adultes, lorsque la concrétion calcaire a envahi tout ou partie de la cavité cellulaire, les résultats sont moins nets, car le contenu cellulaire se fragmente alors en éléments qui restent attachés à la masse calcaire. Ces observations confirment toutefois celles faites en utilisant l'hématoxyline et permettent d'affirmer qu'il y a un contact étroit entre le cytoplasme et le cystolithe.

B. — Cas du *Broussonetia papyrifera* Vent. (Moracée)

Les cystolithes se forment à l'intérieur de poils épidermiques. Ceux-ci sont courts sur l'épiderme supérieur et beaucoup plus allongés sur l'épiderme inférieur. Mais, dans les deux cas, leur mode de développement est le même. Dans les très jeunes feuilles encore incluses dans le bourgeon, quelques cellules épidermiques se distinguent de leurs voisines par leur taille légèrement supérieure (fig. 14 a). Elles font saillie à l'extérieur et forment des poils courts. Bientôt, sur le côté du poil, au-dessus du niveau où la cellule pilifère entre en contact avec les cellules épidermiques voisines, se forme un épaissement membranaire interne : c'est le futur pédicelle (fig. 14 b) qui est très volumineux.

En même temps que la feuille grandit, les cellules épidermiques augmentent de volume et les poils à cystolithes de l'épiderme inférieur s'al-

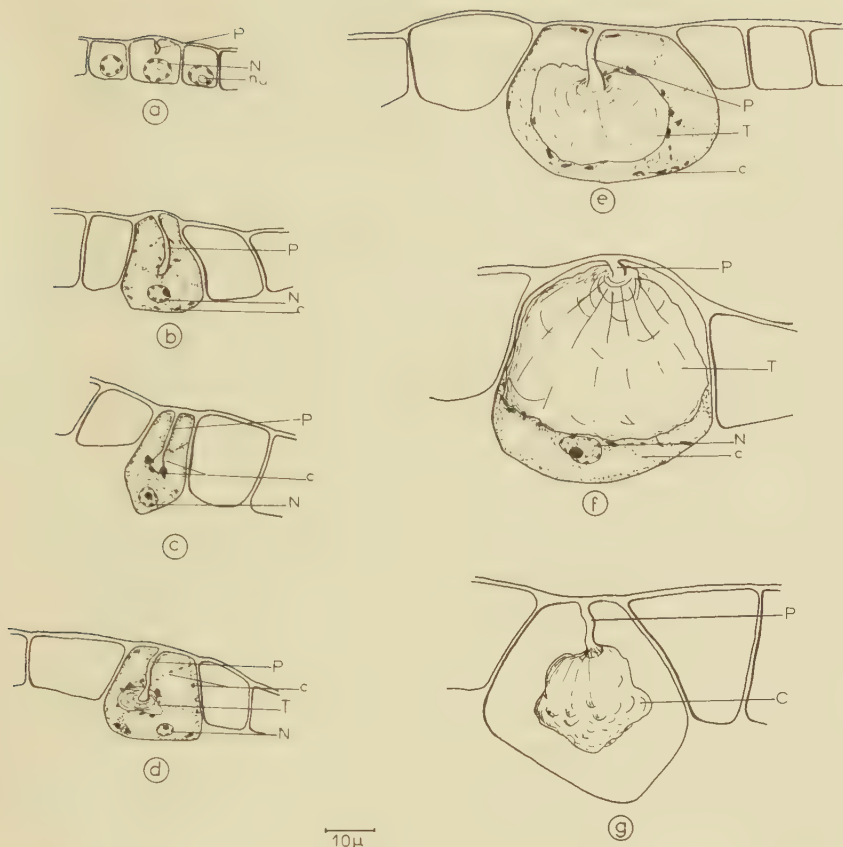


Fig. 13. — Différents stades d'évolution des cystolithes du *Parietaria officinalis* L. (Urticacée).

De *a* à *f*, coupes de feuilles fixées au Zenker afin d'éliminer le calcaire gênant pour la confection des coupes au microtome.

a) Très jeune cystolithe montrant le début de la formation du pédicelle (Coloration nucléaire de Feulgen).

b et *c*) Deux stades d'évolution du pédicelle dans une jeune feuille (Coloration à l'hématoxyline).

d) Apparition de la trame (Coloration à l'hématoxyline).

e et *f*) Cystolithes complètement formés (Coloration à l'hématoxyline).

g) Coupes faites à la main sur une feuille fraîche. Ici, l'absence de fixation permet de voir le début de la calcification sur un cystolithe dont la trame est déjà bien formée mais n'a pas encore atteint sa taille définitive.

P = pédicelle ; T = trame ; C = corps du cystolithe ; c = cytoplasme ; N = noyau.

La coupe *a* permet de voir la structure du noyau. Les coupes *b*, *c*, *d*, *e* et *f* montrent, en outre, le contact étroit qui existe entre le cytoplasme et le cystolithe.

longent considérablement (fig. 14 c). L'épaississement membranaire grossit et semble bientôt constitué de deux parties distinctes (fig. 14 d et e) :

— Une zone en contact direct avec la membrane du poil et très réfringente. C'est le pédicelle du cystolithe qui est parfois coudé et toujours très gros.

— Une masse non réfringente qui correspond à la trame.

Des essais, faits avec HCl, montrent que la calcification commence très tard sur une trame bien développée. Peu à peu, le cystolithe occupe un volume de plus en plus grand à l'intérieur de la cellule et obstrue bientôt la base renflée du poil. Pendant la formation de ce cystolithe, l'extrémité pilifère s'emplit également d'un dépôt calcaire qui envahit le canal cellulaire. Il y a donc deux points de calcification dans un même poil. Il ne semble pas y avoir de relation dans le temps entre ces deux calcifications. Parfois, un cystolithe très bien formé se trouve dans un poil peu ou pas calcifié (fig. 14 c). Mais il est possible aussi de trouver un cystolithe dans ses premiers stades d'évolution à l'intérieur d'un poil dont l'extrémité est déjà fortement obstruée par un dépôt calcaire (fig. 14 f). En effet, on verra, dans le chapitre suivant, qu'il se forme des cystolithes durant toute la vie de la plante, de telle sorte qu'il peut s'en différencier à n'importe quel stade d'évolution des cellules pilifères.

Dans l'épiderme supérieur, où les poils sont plus courts, dépôt calcaire et cystolithe se rejoignent rapidement, et une observation superficielle pourrait laisser supposer que les cystolithes proviennent d'une expansion de ce dépôt plutôt que d'une formation propre. Cependant, on parvient, en général, à distinguer une zone de discontinuité entre ces deux parties de la cellule (fig. 14 g). De plus, le pédicelle demeure toujours visible (même fig. 14 g).

L'examen des constituants cellulaires montre que le noyau, réticulé à petits chromocentres, occupe une position basale dans le lithocyste (fig. 14 a, b, h). Dans la figure 15 h, le cystolithe a déjà atteint une taille importante sans que le contenu cellulaire paraisse en quoi que ce soit modifié. Les stades ultérieurs sont difficiles à obtenir, les poils se déchirant au microtome. Enfin, de nombreuses observations ont permis de constater la présence de nombreuses granulations cytoplasmiques au contact des cystolithes.

C. — Cas du *Ficus sycomorus* L. (Moracée)

Les feuilles du bourgeon sont protégées chacune par un capuchon stipulaire, caduc et conique, dans lequel on ne trouve jamais de cystolithes. Ceux-ci sont localisés dans les épidermes foliaires internes et externes, et présentent dans chacun d'eux des aspects semblables.

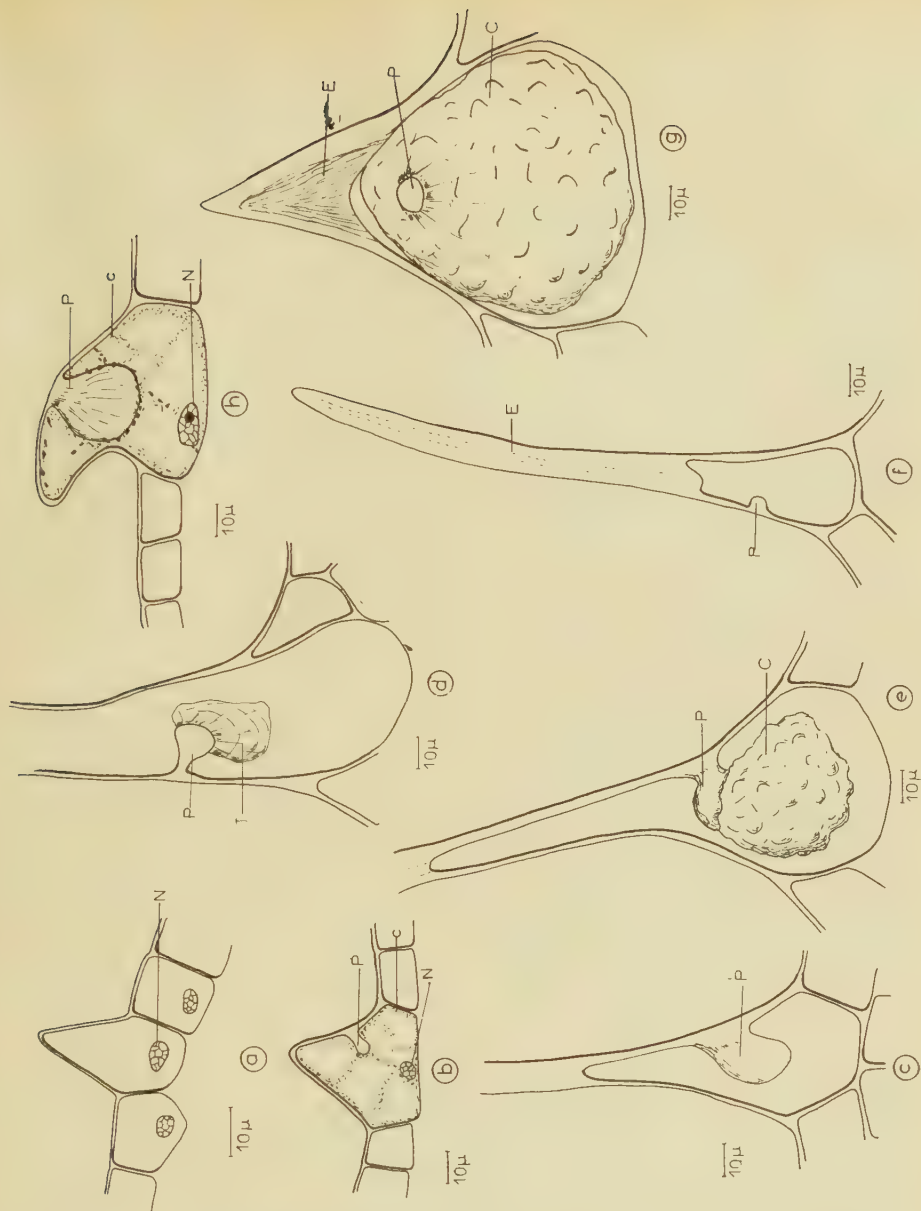


Fig. 14. — Différents stades d'évolution des cystolithes du *Broussonetia papyrifera* (Moracée).

a et b) Coupes faites dans un bourgeon fixé au Regaud.

a) Epiderme externe d'une future feuille (Coloration nucléaire de Feulgen).

b) Jeune lithocyste montrant le début de la formation du pédicelle (Epiderme externe. Coloration à l'hématoxyline).

c, d, e, f) Cystolithes à différents âges dans l'épiderme externe d'une feuille. On voit en d une trame nettement formée mais non encore calcifiée (Coupes non fixées, faites à la main et non colorées).

g) Cystolithe adulte de l'épiderme interne d'une feuille (Coupe faite à la main, non fixée et non colorée).

h) Lithocyste de l'épiderme interne d'une feuille (Fixation : Zenker. Coloration : hématoxyline). On voit ici le contact entre le cytoplasme et le pédicelle. De plus, le noyau de la cellule est nettement visible.

P = pédicelle ; T = trame ; C = corps du cystolithe ; E = épaissement calcaire ; N = noyau ; c = cytoplasme.

Dans les très jeunes feuilles, encore incluses dans le bourgeon, quelques cellules épidermiques forment des poils courts dont la membrane subit bientôt un épaississement terminal interne (fig. 15 *a* et *b*) dont nous verrons ultérieurement qu'il est de nature siliceuse. Ce sont les futurs lithocystes. Sur l'épaississement formé apparaît une protubérance, médiane ou non, qui pénètre à l'intérieur du lithocyste (fig. 15 *c*). Contrairement à ce que nous avons vu dans la Pariétaire, le pédicelle est toujours très volumineux. La trame constitue un renflement, arrondi à son extrémité, et se recouvre peu à peu de carbonate de calcium (fig. 15 *d*, *e*, *f*, *g*). Dans un même épiderme on distingue facilement des cystolithes de différents âges : les uns jeunes et non calcifiés, les autres adultes, formés d'un pédicelle et d'un corps cystolithique déjà très important. De plus, il est possible, dans certains cas, de trouver plusieurs cystolithes dans une même cellule (fig. 15 *h*), mais l'un d'eux seulement parvient à l'état d'adulte. Dans tous les cas, les poils à cystolithes demeurent courts et constituent une forme intermédiaire entre les lithocystes des Pariétaires et ceux des *Broussonetia*.

Notons également que l'observation des cystolithes doit être faite rapidement, car le calcaire, fort instable, disparaît quand les feuilles sont en inanition (PIREYRE 1954).

Dans les cellules très jeunes, le noyau des lithocystes, un peu plus gros que celui des cellules voisines, quitte sa position centrale et gagne la partie inférieure de la cavité cellulaire. Ce noyau, dont l'enchylème est fort peu coloré par la fuchsine, comprend un réticulum bien marqué et de nombreux chromocentres. Il demeure visible dans tous les stades examinés sans subir aucune dégénérescence ni pycnose.

Le cytoplasme présente exactement le même aspect que dans les cas précédents.

II. — CYSTOLITHES ALLONGES

A. — Cas du *Ruellia strepens* L. (Acanthacée)

SCOTT (1946) a déclaré que les cystolithes des feuilles du *Beloperone*, Acanthacée à cystolithes du type *Ruellia*, évoluent de la même manière que ceux du *Ficus elastica* (évolution semblable, par conséquent, à celle étudiée dans les cas précédents). Ceux des tiges auraient cependant un mode de développement tout à fait particulier. Aussi avons-nous observé ici des jeunes tiges et des racines. Des coupes longitudinales permettent de voir que les cystolithes se forment comme chez la Pariétaire. Cependant, le pédicelle, assez épais ici, prend naissance non sur la membrane tangentielle externe des cellules, mais sur une de leurs parois radiales.

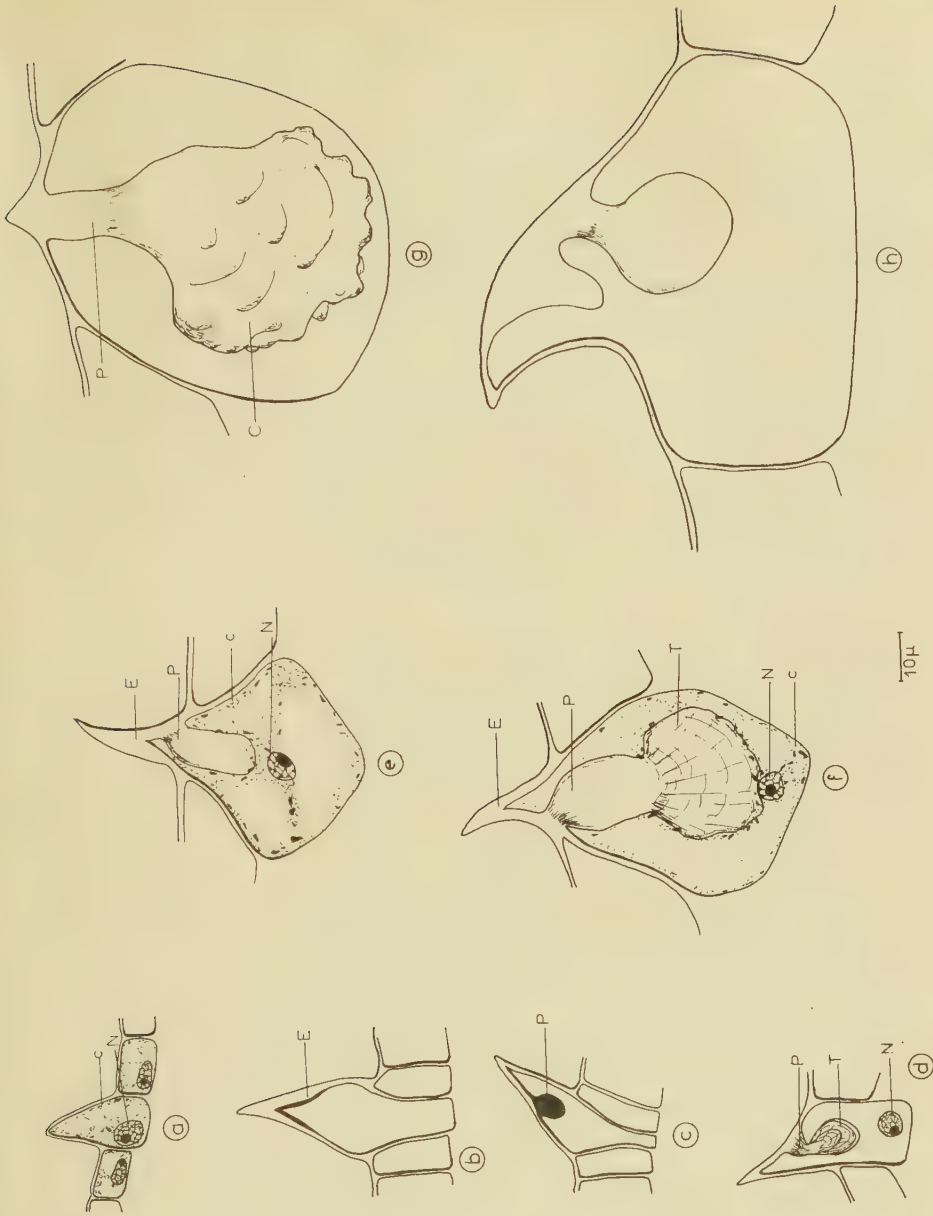


Fig. 15. — Différents stades d'évolution des cystolithes de *Ficus sycomorus* (Moracée).

a et b) Futurs lithocystes (a : Regaud-hématoxyline ; b : Zenker-rouge de ruthénium).

c, d, e) Lithocystes jeunes (c et d : Zenker-rouge de ruthénium, en c le pédicelle est fortement coloré par le rouge de ruthénium ; e : Zenker-hématoxyline).

f) Lithocyste adulte (Zenker-hématoxyline). On voit ici le noyau non dégénéré.

g) Autre aspect d'un cystolithe adulte (coupe faite à la main, non fixée et non colorée).

h) Cystolithe double (coupe faite à la main, non fixée et non colorée).

P = pédicelle ; T = trame ; C = corps du cystolithe ; E = épaississement pilifère ; N = noyau ; c = cytoplasme.

Au début de leur formation, les cystolithes ressemblent à ceux que nous avons étudiés jusqu'à présent (fig. 16 *c*). Cependant, les lithocystes sont très allongés tangentiellement à l'organe examiné et, peu à peu, la trame, au lieu de devenir globuleuse, s'allonge et occupe bientôt toute la longueur de la cellule (fig. 16 *d* et *e*). La calcification commence très tôt, lorsque la trame est encore relativement réduite. Quand le cystolithe est complètement développé, le calcaire englobe l'ancien pédicelle qui, très court, devient souvent invisible (fig. 16 *e*).

L'évolution cytologique est la même que dans les cas précédents. Le noyau, réticulé à très petits chromocentres, demeure visible durant tout le développement du lithocyste. Il est localisé le long de la membrane tangentielle interne.

Le cytoplasme reste toujours en contact avec le cystolithe et est peu à peu repoussé au fur et à mesure de sa croissance.

B. — Cas du *Pilea cadieri* Gagnep. et Guillaum. (Urticacée)

Les cystolithes sont également allongés, mais diffèrent cependant quelque peu, nous l'avons vu, des précédents. Des coupes longitudinales, faites dans les bourgeons, ont permis de saisir les premiers stades de leur évolution.

Cette évolution est très proche de celle des autres cystolithes. On reconnaît très tôt, dans les feuilles du bourgeon, les futurs lithocystes, légèrement plus volumineux que les cellules voisines. Sur la paroi cuticulaire apparaît une petite protubérance qui sera le futur pédicelle (fig. 17 *b*). Ce pédicelle grandit peu à peu à l'intérieur de la cellule en restant fin et sinueux (fig. 17 *c*). Ces premiers stades sont difficiles à saisir car la membrane du lithocyste ne subit aucun épaissement et le pédicelle est lui-même toujours très fin.

La trame, formée de couches successives, s'accroît ici perpendiculairement au pédicelle et de part et d'autre de celui-ci (fig. 17 *d*). La calcification débute avant que la trame n'ait atteint sa taille définitive, de telle sorte que les premières feuilles libérées du bourgeon possèdent déjà des petits cystolithes très calcifiés. En même temps que le dépôt de carbonate augmente, le pédicelle devient de moins en moins visible. Nous avons pu l'observer cependant dans un cystolithe adulte (fig. 17 *e*). On remarquera son extrême finesse, ce qui explique la difficulté de le mettre en évidence, et peut-être aussi sa disparition, le pédicelle pouvant être lésé au cours des manipulations nécessaires pour l'observation. Dans les stades ultimes du développement, certains cystolithes s'entourent d'une pellicule très réfringente formée, comme nous le verrons, de composés silicatés isolant le cystolithe de la cellule qui le contient (fig. 17 *f*).

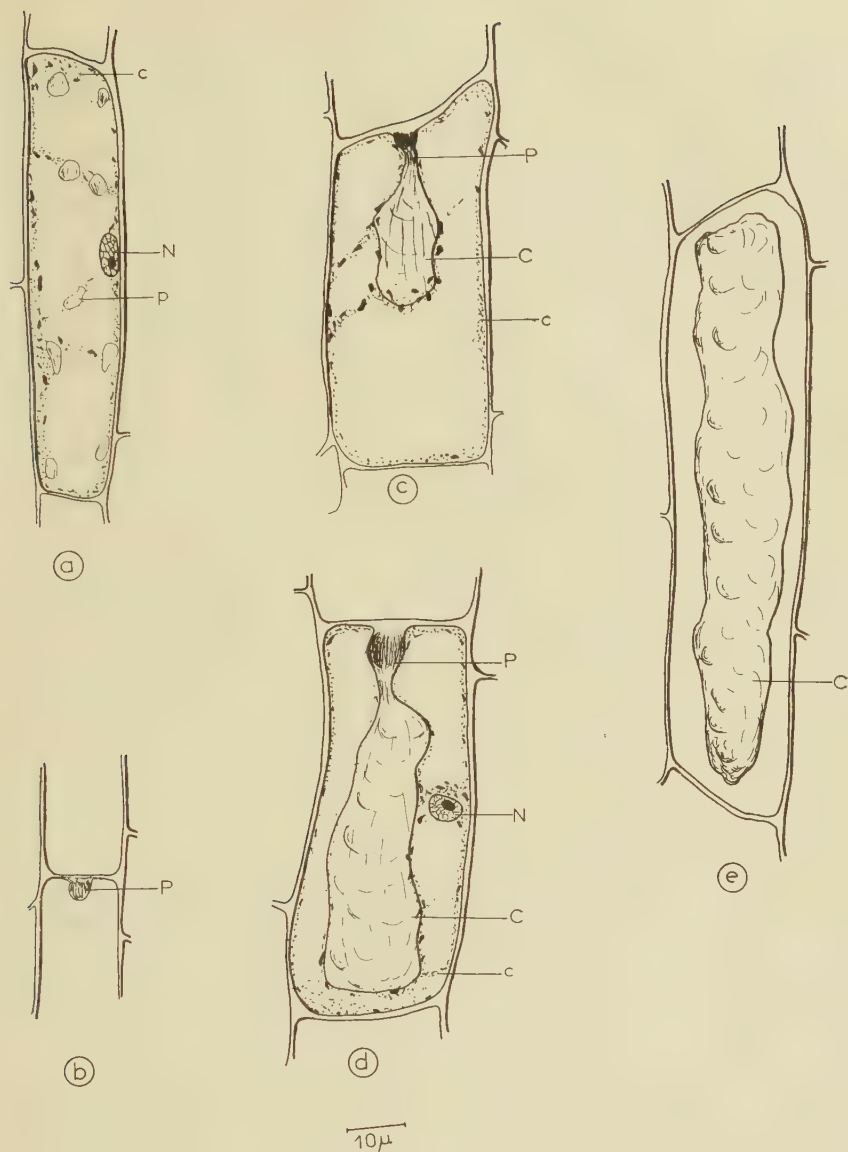


Fig. 16. — Différents stades d'évolution des cystolithes de racine de *Ruellia strepens* (Acanthacée).

a) Cellule banale montrant le cytoplasme et le noyau (Regaud-hématoxyline).

b) Début de formation d'un pédicelle (Zenker-rouge de ruthénium).

c) Cystolithe jeune (Regaud-hématoxyline).

d) Cystolithe adulte (Regaud-hématoxyline).

e) Cystolithe adulte (coupe faite à la main, non fixée et montée dans H_2O) ; le pédicelle ici n'est pas visible.

P = pédicelle ; C = corps du cystolithe ; N = noyau ; c = cytoplasme ;
 P = plaste.

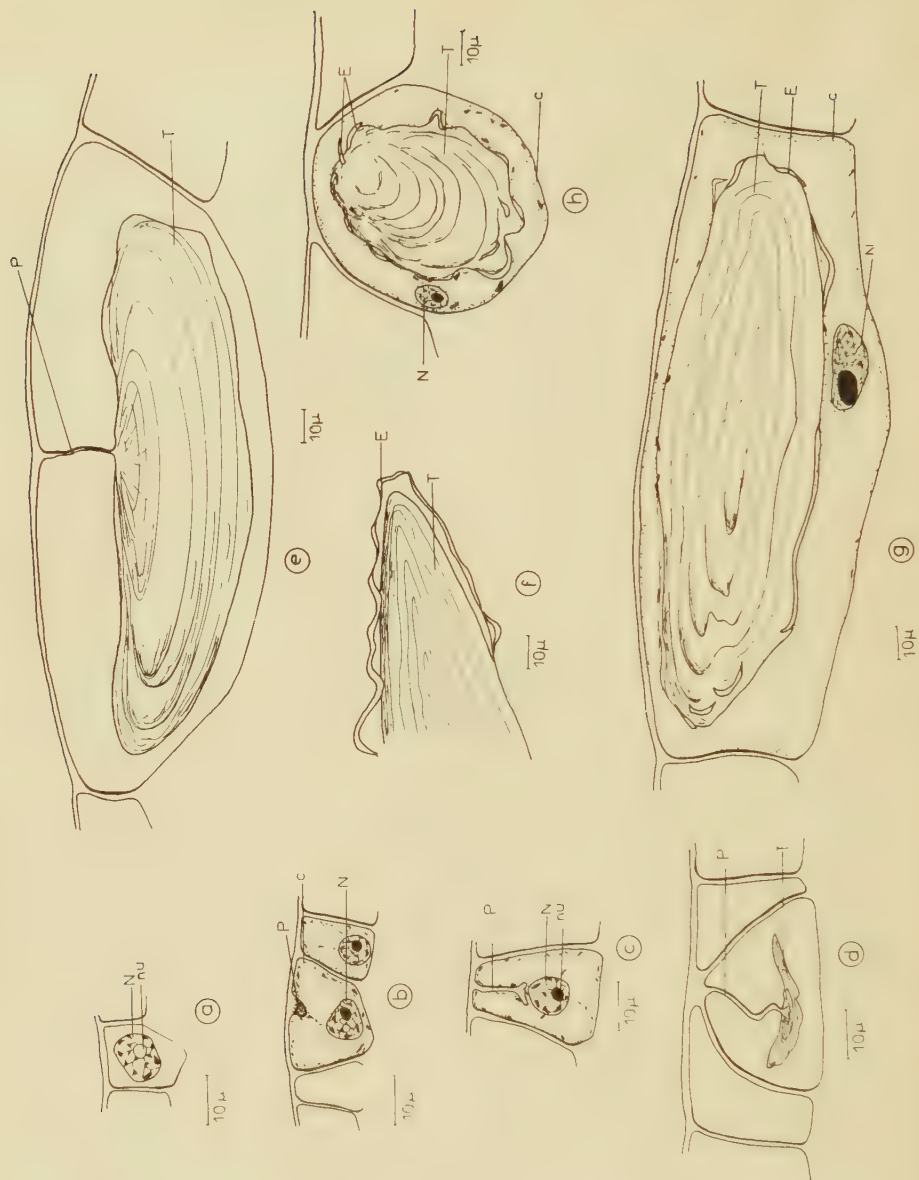


Fig. 17. — Différents stades d'évolution des cystolithes de *Pilea cadieri* (Acanthacée).

- a) Cellule du méristème foliaire (Zenker-Feulgen).
 b et c) Formation du pédicelle (Zenker-hématoxyline).
 d) Cystolithe jeune (Zenker-rouge de ruthénium).
 e) Cystolithe adulte dont on voit encore le pédicelle (Zenker-rouge de ruthénium).
 f) Pointe d'un cystolithe montrant la membrane qui l'entoure (Zenker-hématoxyline).
 g et h) Lithocystes adultes (Zenker-hématoxyline). g : coupe longitudinale ; h : coupe transversale. Dans les deux coupes, le noyau est nettement visible.
 P = pédicelle ; T = trame ; E = épaissement externe du cystolithe ; C = corps du cystolithe ; N = noyau ; nu = nucléole ; c = cytoplasme.

Le noyau reste visible pendant tout le développement du lithocyste, même lorsque le cystolithe est entouré de sa membrane silicatée (fig. 17 *g* et *h*). Il comprend un réticulum très faiblement coloré et des chromocentres assez volumineux (fig. 17 *a*, *b*, *c*).

Nous remarquons, ici, que les cystolithes se trouvent aussi bien dans les feuilles du bourgeon que dans les capuchons stipulaires qui les recouvrent. Mais, dans un bourgeon donné, les cystolithes des stipules sont plus différenciés que ceux des feuilles. A l'intérieur du bourgeon les cystolithes ne sont pas calcifiés, mais ils le deviennent très rapidement dès que l'organe qui les contient devient chlorophyllien.

III. — CYSTOLITHES DU *PEYSSONNELIA RUBRA* J. AG.

(SQUAMARIACEE)

Le thalle de cette Algue a une structure cellulaire. La couche cellulaire inférieure est très fortement imprégnée de calcaire aragonitique, et forme des rhizoïdes qui permettent la fixation du Végétal sur son substrat. Parmi les cellules de cette couche, certaines, plus allongées que leurs voisines, occupent à peu près toute l'épaisseur du thalle (fig. 18 *c*). Leur paroi, en contact avec le dépôt aragonitique inférieur, subit un épaissement interne globuleux (fig. 18 *d*). Cet épaissement s'allonge bientôt (fig. 18 *e*), mais, rapidement, le CaCO_3 se dépose sur les jeunes cystolithes, sans formation préalable d'une trame. Celle-ci existe cependant, très ténue, et peut être mise en évidence par décalcification lente avec de l'eau additionnée de CO_2 . Nous pouvons donc conclure que le dépôt calcaire, fort précoce, se fait conjointement avec la croissance de la trame. Cette dernière précéderait immédiatement ou accompagnerait le dépôt de chaque couche correspondante de calcaire. Le CaCO_3 , qui se dépose depuis le point d'attache, forme des zones concentriques et les stries d'accroissement sont bien visibles sur la planche IV A. Le pédicelle est toujours très court et trapu, ce qui le rend difficilement visible (fig. 18 *g*).

Sur le vivant, le noyau se distingue nettement (fig. 18 *a*). Après fixation et mise en œuvre de la réaction de Feulgen, on peut observer son nucléole et un réseau chromatique aux angles duquel se trouvent des grains de chromatine relativement gros (fig. 18 *b*). Cette structure est considérée comme générale par CELAN (1940) qui admet, ainsi que VON NEUESTEIN (1914) et KYLIN (1937), « de grandes variations en ce qui concerne l'existence d'un réseau plus ou moins parfait selon les espèces ». Au fur et à mesure de l'évolution du cystolithe, le noyau émigre vers la membrane cellulaire tangentielle interne (fig. 18 *f* et *i*) et conserve toujours une structure normale sans aucune trace de pycnose.

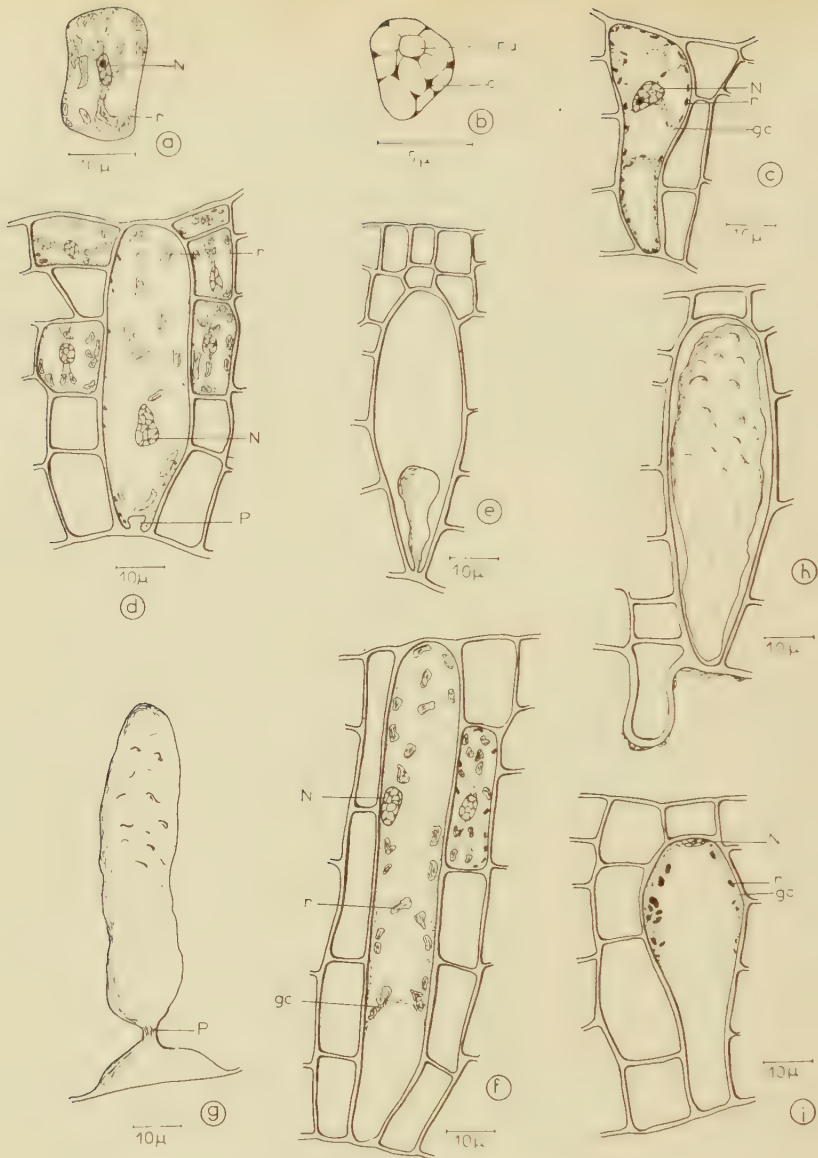


Fig. 18. — Différents stades d'évolution des cystolithes de *Peyssonnelia rubra* (Squamariacée).

a) Aspect d'une cellule vivante.

b) Structure détaillée du noyau (Helly-Feulgen).

c) Future cellule à Cystolithe (Helly-hématoxyline).

d) Premier stade de formation du pédicelle (Helly-Feulgen).

e) Cystolithe jeune.

f) Lithocyste jeune dans lequel on ne distingue que l'emplacement du cystolithe qui a été décalcifié, après fixation du matériel, par une solution à 5 % d'acide acétique et par la coloration (Helly-Feulgen). On remarquera la migration du noyau.

g et h) Cystolithes adultes (coupes faites à la main, non fixées et non colorées). On distingue bien en g le pédicelle du cystolithe.

i) Lithocyste adulte. Cystolithe décalcifié, après fixation des pièces, par une solution à 5 % d'acide acétique (Helly-hématoxyline).

P = pédicelle ; C = corps du cystolithe ; N = noyau ; nu = nucléole ; c = chromatine ; gc = granulations cytoplasmiques ; r = rhodoplastes.

Comme dans tous les cas précédents, le cytoplasme est en contact avec le cystolithe, et l'on distingue nettement les rhodoplastes et le chondriome.

Notons pour finir que les parois de l'Algue sont imprégnées d'une substance qui colore le réactif de Schiff. Elles apparaissent, en effet, complètement rouges après un séjour de quelques heures dans celui-ci. Ce fait doit être assez général dans les Algues, car il a été observé dans d'autres espèces par HUREL-PY (1936).

IV. — DEPOTS CALCAIRES EN AMAS

Ce cas ne sera examiné que pour faire apparaître les analogies, mais aussi les différences, permettant de considérer les dépôts calcaires en amas comme des cas intermédiaires entre les cystolithes vrais et les concrétions calcaires multiples qui peuvent se rencontrer dans les Végétaux. Il a été étudié sur une Borraginacée : le *Cerinth major* L.

Comme dans les cas précédents, les cellules qui renfermeront les concrétions calcaires se distinguent, très jeunes, par leur taille, de leurs voisines. Une protubérance apparaît bientôt sur la membrane cuticulaire et fait hernie à l'intérieur de la cellule (fig. 19 *a*). C'est alors que l'évolution devient différente de celle d'un lithocyste normal. En effet, la protubérance ne s'allonge jamais en forme de pédicelle (fig. 19 *b*) et la calcification commence immédiatement, sans qu'on puisse distinguer préalablement l'apparition d'une trame, ainsi que cela se produisait dans les cas précédents, étudiés parmi les Végétaux supérieurs. Cette trame existe cependant, car elle est très visible sur les coupes fixées au Zenker et colorées à l'hématoxyline ferrique. Elle peut également être observée directement lorsqu'on dissout le CaCO_3 par de l'acide acétique. Il faut donc supposer, comme dans le cas du *Peyssonnelia rubra*, que la croissance de la trame précède immédiatement, ou accompagne, le dépôt de chaque couche correspondante de calcaire.

Lorsque les dépôts ainsi formés viennent en contact avec les membranes limitant les cellules épidermiques contiguës, la calcification se poursuit à l'intérieur de ces dernières (fig. 19 *c* et *d*). Ainsi, de part en part, un nombre plus ou moins important de cellules peut se calcifier (fig. 19 *e*). Nous avons là une calcification par contact des dépôts entre eux, très différente des formations cystolithiques vraies. Cependant, cette même figure 19 montre que les premiers dépôts formés peuvent être assimilés à un pédicelle. Ils sont, comme lui, plus réfringents que le reste de la formation.

Le noyau de ces cellules calcifiées demeure toujours visible aux abords de la membrane tangentielle interne. Il possède un réticulum très fin et de gros chromocentres. Le cytoplasme, comme dans les cas précédents, est en contact étroit avec les dépôts calcaires.

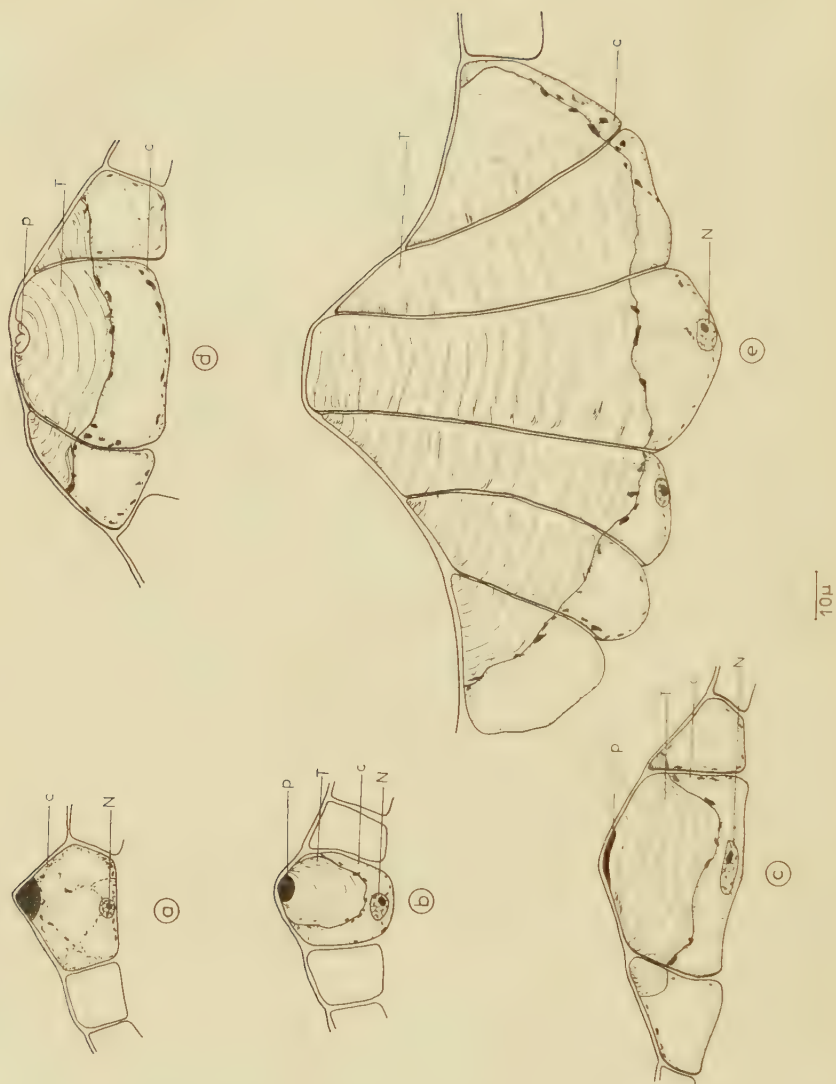


Fig. 19. — Différents stades d'évolution des dépôts calcaires en amas de *Cerinthe major* (Borraginacée).

Coupes de feuilles fixées au Zenker et colorées à l'hématoxyline.

a et b) Stades jeunes.

c et d) Début de calcification des cellules adjacentes, indiqué par la présence d'une trame, le calcaire étant éliminé par l'acide acétique du Zenker.

e) Dépôts calcaires adultes.

p = équivalent du pédicelle ; T = trame ; N = noyau ; c = cytoplasme.

Notons que dans tous les stades observés on distingue très bien les noyaux des cellules calcifiées et le cytoplasme en contact avec les épaissements.

V. — DISCUSSION

Au cours de ce chapitre, l'évolution des diverses cellules à cystolithes a été étudiée. Elle nous a permis de mettre en évidence un certain nombre de points communs à chacune d'elles, et de préciser les caractères des vrais cystolithes par rapport aux différentes calcifications membranaires.

Tout d'abord, tous les cystolithes possèdent un pédicelle qui se différencie très précocement.

Sans que l'on sache exactement comment se fait la calcification par rapport à la trame on peut dire que, dans les vrais cystolithes, une trame bien distincte prend naissance à partir du pédicelle et c'est sur elle seule que, dans un stade plus avancé, le calcaire se dépose.

Chez le *Peyssonnelia rubra* et le *Cerinthe major*, trame et CaCO_3 se forment en même temps sur le jeune pédicelle, de telle sorte qu'on ne peut jamais voir de trame dépourvue de calcaire. Les cystolithes du *Peyssonnelia* sont, cependant, encore de vrais cystolithes parce que la concrétion demeure entourée de cytoplasme et bien localisée dans une cellule particulière. Les cystolithes du *Cerinthe*, au contraire, ont des caractères plus voisins d'une simple calcification membranaire. S'il est possible, en effet, de distinguer primitivement l'équivalent d'un pédicelle très court dans une cellule déterminée, la calcification gagne bientôt les cellules voisines, et la concrétion a un aspect en « amas » assez différent de l'aspect des vrais cystolithes.

Reste à déterminer maintenant l'importance de la différence du mécanisme de calcification dans les cystolithes du *Peyssonnelia* et dans ceux des Végétaux supérieurs. On a vu que cette différence réside dans le fait que, chez les Algues, trame et concrétion calcaire se forment à la fois, tandis que, chez les Végétaux supérieurs, la trame précède très nettement le dépôt de calcaire. CHAREYRE prétendait même que, chez les Urticacées et les Moracées, la calcification ne débute que lorsque la trame a atteint sa taille définitive (1884). En réalité, cette assertion est trop absolue, et si la trame précède bien le dépôt de calcaire au moment de la différenciation des cystolithes, on peut s'apercevoir facilement, par l'examen des figures 14 *e* et *g* concernant le *Broussonetia*, que le cystolithe calcifié continue à grossir. De même, les cystolithes de feuilles adultes du *Parietaria officinalis* montrent, après décalcification, des trames beaucoup plus volumineuses que celles observées dans les cystolithes des jeunes feuilles. Par conséquent, à partir d'un certain stade, trame et calcaire se déposent simultanément.

A la faveur de ces observations, on peut conclure qu'il n'existe qu'une différence assez minime entre les cystolithes du *Peyssonnelia rubra* et ceux

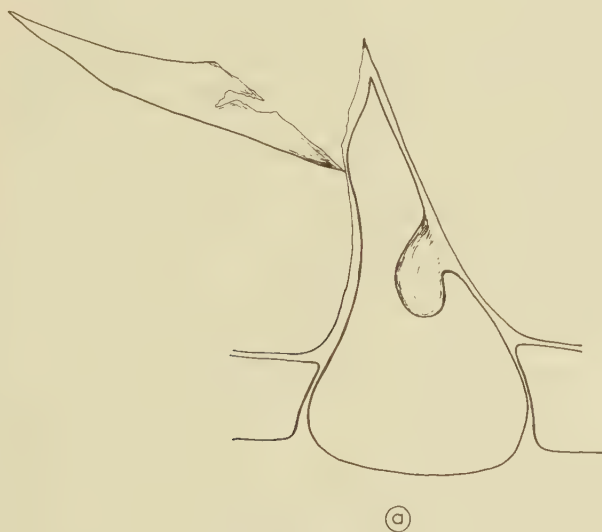
des Végétaux supérieurs. Dans les premiers, trame et calcaire se forment toujours ensemble. Dans les seconds, une trame s'ébauche d'abord, puis se calcifie, mais le cystolithe continue alors sa croissance par coprécipitation de substances organiques et de carbonate de calcium.

SACHS (1870) et RABIGER (1951) admettaient la disparition du contenu cellulaire pendant la croissance des cystolithes, observation controversée par AJELLO (1941) et HILTZ (1951). On a pu constater que le noyau demeure bien vivant et normal dans tous les types de cellules à cystolithes étudiés. De même, le cytoplasme, dans tous les cas observés, reste en contact étroit avec les cystolithes. On peut donc supposer qu'il prend une part active à l'élaboration des cystolithes. On peut de même admettre, comme l'a fait SCOTT (1946), que son rôle est de transporter les substances constituant ces cystolithes. Nous sommes, par contre, en totale contradiction avec cet auteur lorsqu'il déclare que les premiers « cristaux » apparaissent dans une vacuole et s'y accumulent. D'après lui, ces cristaux se rattacheraient ultérieurement à la membrane par un pédicelle correspondant à « une de ces innombrables papilles du cystolithe rattachée à la paroi par une bande de cytoplasme plus importante que celles qui sont en contact avec les autres papilles ». Or, les observations que nous avons pu faire sur le *Ruellia strepens*, Acanthacée voisine du *Beloperone* étudié par SCOTT, montrent, au contraire, que le pédicelle est d'origine membranaire. Il en est de même pour les cystolithes du *Pilea cadieri*. On voit d'ailleurs que l'attache se fait avant que la trame ou le dépôt de CaCO_3 n'ait formé de « papille ». De plus, des plasmolyses faites sur des racines de *Ruellia strepens*, qui possèdent des cystolithes moins volumineux que les feuilles, montrent que le système vacuolaire ne prend aucune part à l'élaboration du cystolithe. Le cytoplasme, en effet, se détache totalement, par plasmolyse, du pédicelle et de son extrémité renflée. HILTZ (1951), nous l'avons vu, avait observé l'indépendance totale des vacuoles et des cystolithes dans son étude sur le *Ficus elastica* entreprise à peu près à la même époque que les recherches de SCOTT. Nos essais de plasmolyse sur la Pariétaire ont confirmé ces résultats. Enfin, ces essais sont en faveur de l'intégrité vitale des lithocystes à tous les stades de leur développement.

CHAREYRE (1884), dans son étude sur l'évolution des cystolithes dans les poils, considère que la plupart des cystolithes proviennent de « poils qui régressent au fur et à mesure de leur développement ». En fait, il paraît bien surprenant qu'une membrane ainsi formée puisse peu à peu disparaître. Nos observations sur le *Broussonetia papyrifera*, étudié aussi par CHAREYRE, montrent que, dans ce cas particulier tout au moins, cet auteur ne faisait aucune distinction entre les cystolithes des épidermes internes ou externes. Or, nous avons vu que les poils de l'épiderme interne sont beaucoup plus courts que ceux de l'épiderme externe. Cependant, chez le

Ficus sycomorus, les observations, faites sur une feuille donnée, montrent, effectivement, que les poils contenant de gros cystolithes sont plus courts que ceux dans lesquels les cystolithes sont aux premiers stades de leur développement.

Il nous semble, cependant, que sans envisager la régression des poils au cours de l'évolution des cystolithes, on peut expliquer, tout au moins dans ce cas, cette anomalie de la façon suivante. La formation des cystolithes s'accompagne d'un dépôt plus ou moins intense de silice sur la partie terminale du poil. Ce dépôt doit stopper, ou tout au moins ralentir, la croissance membranaire du poil. En outre, plus les cystolithes d'une feuille donnée sont développés, plus leur formation a commencé tôt dans la vie de cette feuille. Par conséquent, les premiers cystolithes se sont différenciés dans des poils très jeunes dont la partie effilée a été stoppée dans sa croissance par les premiers dépôts de silice. Aussi peut-on imaginer que l'épaississement membranaire au-dessus d'un cystolithe adulte d'une feuille quelconque correspond à l'extrémité épaissie d'un très jeune poil. Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait faire des coupes dans des feuilles de plus en plus éloignées du bourgeon. En effet, dans les feuilles âgées, les cysto-



10 μ

Fig. 20. — Poil à cystolithe de *Broussonetia papyrifera* (Moracée).

Le poil ici a été rompu au point de moindre résistance au moment de l'inclusion dans la moelle de sureau ayant servi à faire les coupes.

lithes peu à peu s'homogénéisent dans leur taille, comme nous le verrons dans le chapitre suivant. Dans ces feuilles par conséquent, les cystolithes les derniers formés devraient être très calcifiés et se trouver cependant dans des poils ayant atteint leur stade adulte au moment de leur formation, donc très bien développés. Malheureusement, le *Ficus sycomorus* n'existant pas dans la région parisienne, les feuilles, qui nous ont été expédiées du Liban, étaient toutes isolées, ce qui n'a pas permis de faire cette vérification.

Une autre constatation peut également expliquer les faits relatés.

Au cours de nos observations microscopiques sur le *Broussonetia*, nous avons pu remarquer que certaines extrémités de poils étaient sectionnées à la base de l'épaississement accompagnant la formation des cystolithes (Fig. 20). Il est possible qu'au cours de la vie des cellules les poils ainsi épaissis se cassent au point de moindre élasticité de la membrane et, partant, diminuent de taille.

Par conséquent, les observations de CHAREYRE doivent s'expliquer, à notre avis, non par des régressions, qui n'ont pu être mises en évidence, mais par un arrêt de croissance des parties épaissies de la membrane, ou par des ruptures mécaniques aux points de moindre résistance.

CHAPITRE III

MODE D'APPARITION ET DE REPARTITION DES CYSTOLITHES DANS LES LIMBES FOLIAIRES

On peut se demander quelle est l'origine des cellules à cystolithes. Sont-elles en nombre constant et, de ce fait, spécialisées dès leur plus jeune âge pour accumuler le carbonate de calcium fabriqué par la plante. Ou bien, se différencient-elles au fur et à mesure des besoins du Végétal ? Un seul auteur a abordé incidemment cette question. HILTZ (1951), dans ses études sur le *Ficus elastica*, signale que « dans une même feuille tous les lithocystes sont approximativement au même stade ». Il faut conclure de cette observation que les cystolithes se développent tous en même temps dans une feuille donnée et doivent, par conséquent, être en nombre fixe quel que soit son âge. Cette conclusion est en désaccord avec nos observations sur le *Ficus sycomorus*. Chez cette espèce, les cystolithes d'une même feuille ne sont pas tous de même grandeur, ce qui laisse supposer qu'ils doivent apparaître au fur et à mesure de sa croissance.

Aussi avons-nous essayé de résoudre le problème de l'origine des cystolithes. Ceci nous a entraînée à étudier leur répartition dans les différentes feuilles d'une même plante, puis, à l'intérieur d'une même feuille, dans les différentes régions de celle-ci. Dans une dernière partie, nous avons étudié la calcification des cystolithes en fonction de l'âge des feuilles et de leur développement, en expérimentant sur les plantes normales, mais aussi sur des plantes carencées en calcium.

Ces recherches ont été faites sur :

1) Le *Parietaria officinalis* L. (Urticacée) et le *Ficus elastica* Roxb. (Moracée), à cystolithes globuleux présents seulement dans les feuilles.

2) Le *Ruellia strepens* L. (Acanthacée), à cystolithes allongés présents dans tous les organes. Dans ce dernier cas, seuls les cystolithes des feuilles ont été examinés.

Selon leur degré d'éloignement du bourgeon principal, les feuilles seront appelées F_1, F_2, F_n , la feuille F_1 étant la première feuille complètement séparée de ce bourgeon. Dans le cas de plantes à feuilles opposées, les deux feuilles d'un même niveau seront dénommées $F_1 F'_1, F_2 F'_2, \dots, F_n F'_n$.

I. — NOMBRE DE CYSTOLITHES DANS LES DIVERSES FEUILLES D'UN MEME PLANT

A. — Numérations des cystolithes dans le cas de feuilles opposées

Les plants utilisés appartiennent à l'espèce *Ruellia strepens* L. chez laquelle les cystolithes se calcifient rapidement. Ces plants ont été cultivés, au laboratoire, sur divers milieux synthétiques.

1) NUMÉRATIONS PORTANT SUR LES FEUILLES F_1 F'_1

Les résultats obtenus, en comptant les cystolithes sur des radiographies de feuilles (tabl. VII), montrent que le nombre total des cystolithes est assez comparable, compte tenu des différences de surface entre deux feuilles

TABLEAU VII

Comparaison du nombre des cystolithes contenus
dans les feuilles opposées F_1 F'_1 de *Ruellia strepens*

N = Nombre total de cystolithes.
S = Surface des feuilles en cm^2 .
N/S = Nombre de cystolithes par cm^2 .

N° des plants	Désignation des feuilles	N	S	N/S	N de F_1 par rapport à N de F_1 (en %)	N/S de F_1 par rapport à N/S de F_1 (en %)
1	F_1	2037	0,4243	4801	109,4	102,6
	F'_1	2230	0,4526	4927		
2	F_1	2081	0,2923	7119	100,8	91,3
	F'_1	2098	0,3206	6544		
3	F_1	1380	0,4243	3485	107,6	100,4
	F'_1	1486	0,3960	3502		
4	F_1	929	0,3206	2897	111,4	102,3
	F'_1	1035	0,3489	2966		

opposées. En effet, en calculant le nombre de cystolithes par centimètre carré de chaque feuille opposée, on constate que seul le deuxième plant présente une variation de 9 % d'une feuille à l'autre, mais dans tous les autres cas cette variation n'excède pas 3 %.

Remarque :

Il y a parfois des différences considérables entre le nombre global ou par unité de surface des cystolithes dans les feuilles correspondantes $F_1 F'_1$ des différents plants. Ceci provient, sans doute, de ce que les feuilles ont été prélevées sans tenir compte de la provenance des cultures puisque les comparaisons portent toujours sur 2 feuilles d'un même plant. De plus, les feuilles $F_1 F'_1$, prises sur des plants différents, ne sont pas forcément de même âge. Il peut arriver, en effet, qu'on les considère soit au moment où elles se sont dégagées du bourgeon, soit au contraire juste avant qu'elles ne deviennent des feuilles $F_2 F'_2$.

Les résultats obtenus pour chaque feuille d'un couple donné présentent aussi quelques variations, mais on peut estimer que les différences trouvées dans ces numérations sont de l'ordre des erreurs d'expérience.

2) NUMÉRATIONS PORTANT SUR DES FEUILLES PLUS ÂGÉES

Reste à savoir si les résultats obtenus sont applicables aux autres feuilles $F_n F'_n$. Seules des numérations sur radiographies ont été faites pour un couple $F_4 F'_4$ (ceci en raison de la multiplicité nécessitée par l'étude de feuilles de surface croissante) (tab. VIII).

TABLEAU VIII

Comparaison du nombre des cystolithes contenus dans deux feuilles opposées du *Ruellia strepens*
(Mêmes notations que pour le tableau précédent)

Désignation des feuilles	N	S	N/S	N de F'_4 par rapport à N de F_4 (en %)	N/S de F'_4 par rapport à N/S de F_4 (en %)
F_4	2114	0,8036	2631	108,1	101,5
F'_4	2287	0,8579	2666		

Afin de vérifier les résultats obtenus par une méthode plus rapide, les cystolithes de zones correspondantes (ici la pointe du limbe) de chaque cou-

ple de feuilles ont été comptés. Le tableau IX indique la moyenne des cystolithes contenus dans un champ du microscope.

TABLEAU IX

Comparaison du nombre des cystolithes
de la pointe du limbe dans des feuilles opposées
de *Ruellia strepens*

Diamètre du champ du microscope : 1,2 mm.

Désignation des feuilles	Nombre de cystolithes contenus dans le champ du microscope
F ₃	15 (moyenne sur 27 mesures)
F' ₃	16 (moyenne sur 26 mesures)
F ₄	13 (moyenne sur 50 mesures)
F' ₄	13 (moyenne sur 50 mesures)

On peut conclure, de ces deux séries d'expériences, que deux feuilles opposées F F' de *Ruellia strepens* possèdent un nombre total de cystolithes assez voisin. De même leur nombre de cystolithes par unité de surface est le même pour chacune d'elles.

B. — Evolution des cystolithes avec l'âge des feuilles

Les précédentes expériences confirment des faits qui sont normaux et pouvaient même être prévus. Mais, si les cystolithes sont tous de même gros-
seur dans une feuille donnée, ils doivent se développer tous en même temps, et par conséquent leur nombre doit rester fixe quel que soit l'âge de la feuille.

Nous avons essayé de vérifier ceci sur le *Ruellia strepens* L. à feuilles opposées et le *Parietaria officinalis* L. qui a des feuilles alternes.

1) CAS DU *Ruellia strepens*

Le *Ruellia strepens* a des feuilles opposées, ce qui est particulièrement commode pour faire des comparaisons entre feuilles de différents âges, puisque nous venons de vérifier que le nombre de cystolithes est semblable dans les deux feuilles d'un même couple.

Nous avons procédé de la façon suivante :

Une feuille de F_n d'un pied de *Ruellia strepens* a été prélevée et radiographiée pour compter les cystolithes. F'_n directement opposée a été laissée

en place. Le pied de *Ruellia strepens* continuant sa croissance, d'autres feuilles se sont formées, et, bientôt, F'_n est devenue F'_{n+1} , F'_{n+2} , etc... Alors seulement nous avons pris cette feuille et avons, grâce à des radiographies, dénombré ses cystolithes globalement et par unité de surface. En s'aidant des résultats mentionnés précédemment, on peut dire, *a priori*, que si le nombre de cystolithes ainsi trouvé diffère de plus de 10 % de celui de la feuille F_n , c'est qu'il s'en est formé de nouveaux pendant le vieillissement de cette feuille. Les résultats obtenus (tabl. X) montrent qu'indubitablement le nombre des cystolithes augmente avec l'âge des feuilles. Cependant, il semble qu'en même temps le nombre de cystolithes par unité de surface ait tendance à diminuer.

TABLEAU X

Evolution du nombre de cystolithes
avec l'âge des feuilles de *Ruellia strepens*
(Mêmes notations que pour les tableaux VII et VIII)

N° des plants	Désignation des feuilles	N	S	N/S	N de F' par rapport à N de F (en %)	N/S de F' par rapport à N/S de F (en %)
1	F_1	2318	0,3772	6145	213,4	89,9
	F'_1 devenue F_3	4947	0,8958	5520		
2	F_2	2420	0,4895	4944	240,0	72,2
	F'_2 devenue F_4	5809	1,6279	3569		

En dénombrant les cystolithes des feuilles F_2 , F_3 , F_4 du *Ruellia strepens* on voit, de même, que le nombre de cystolithes par unité de surface diminue quand la distance des feuilles au bourgeon augmente (tabl. XI).

TABLEAU XI

Comparaison du nombre de cystolithes
dans différentes feuilles d'un même plant de
Ruellia strepens
(Mêmes notations que pour les tableaux précédents)

Désignation des feuilles	N	S	N/S
F_2	1039	0,3258	3189
F_3	1103	0,3801	2902
F_4	2114	0,8036	2631

2) CAS DU *Parietaria officinalis* L.

Cette plante possède des feuilles alternes. Aussi, seule l'étude de la variation du nombre des cystolithes avec l'âge des feuilles a pu être faite. Le tableau XII indique les numérations faites sur des feuilles F_4 , F_5 , F_6 . En effet, la calcification, ici, est plus lente que dans le *Ruellia strepens*, et les cystolithes ne sont pas suffisamment visibles sur les radiographies de F_1 , F_2 , F_3 pour être dénombrés correctement.

TABLEAU XII

Comparaison du nombre des cystolithes
dans 3 feuilles d'un même plant de *Parietaria officinalis*
(Mêmes notations que pour les tableaux précédents)

Désignation des feuilles	N	S	N/S
F_4	4008	1,4770	2714
F_5	4917	1,9420	2532
F_6	7490	2,9950	2001

Pour les feuilles considérées, cependant, les résultats sont comparables à ceux obtenus sur le *Ruellia strepens*.

De ces expériences, il ressort que les cystolithes ne sont pas formés dès l'origine d'une feuille. Il s'en différencie de nouveaux au cours de sa croissance. Toutefois, plus la feuille devient âgée et moins elle forme de nouveaux cystolithes ou, du moins, sa croissance en surface est-elle plus rapide que la différenciation de ses cystolithes.

II. — REPARTITION DES CYSTOLITHES A L'INTERIEUR D'UNE MEME FEUILLE

A. — Divers stades d'évolution des cystolithes

Le nombre de cystolithes n'étant pas fixe durant toute la vie d'une feuille, il faut supposer que, chez le *Ruellia strepens* et le *Parietaria officinalis* tout au moins, les cystolithes ne sont pas tous au même stade d'évolution sur toute la longueur de la feuille. Ceci infirme les conclusions de HULTZ sur *Ficus elastica* et nécessite donc des observations plus appro-

fondies. C'est pourquoi nous avons étudié les cystolithes des feuilles de divers âges du *Ficus elastica*. Puis, nous avons entrepris des observations sur le *Parietaria officinalis* et le *Ruellia strepens*.

1) CAS DU *Ficus elastica*

La taille des cystolithes a été mesurée sur des coupes faites à différents niveaux d'une même feuille. Ces cystolithes étant piriformes, deux dimensions, la longueur et la largeur, étaient nécessaires pour leur étude complète.

Les résultats obtenus montrent que :

— Les cystolithes, pris à un même niveau mais de part et d'autre de la nervure, ont une taille égale (tabl. XIII).

TABLEAU XIII

Taille comparative des cystolithes occupant des situations symétriques par rapport à la nervure principale d'une feuille de *Ficus elastica*
(Moyennes sur 50 mesures)

	Situation des cystolithes par rapport à la nervure principale	Longueur (en μ)	Largeur (en μ)
1ère feuille observée	Côté droit	$66 \pm 2,4$	$56 \pm 0,9$
	Côté gauche	$68 \pm 2,4$	$57 \pm 1,8$
2ème feuille observée	Côté droit	$104 \pm 1,6$	$70 \pm 2,4$
	Côté gauche	$105 \pm 3,6$	$70 \pm 2,8$

— Les cystolithes de la base sont moins volumineux que ceux du sommet de la feuille (tabl. XIV). Les différences s'atténuent cependant lorsque les feuilles vieillissent. De telle sorte qu'en passant d'une feuille F_4 à une feuille F_7 , les cystolithes sont aussi calcifiés (et même parfois plus) au centre de la feuille qu'à son extrémité. Les cystolithes proches du pétiole sont cependant moins développés que les autres. De simples observations confirment d'ailleurs ces résultats (fig. 21).

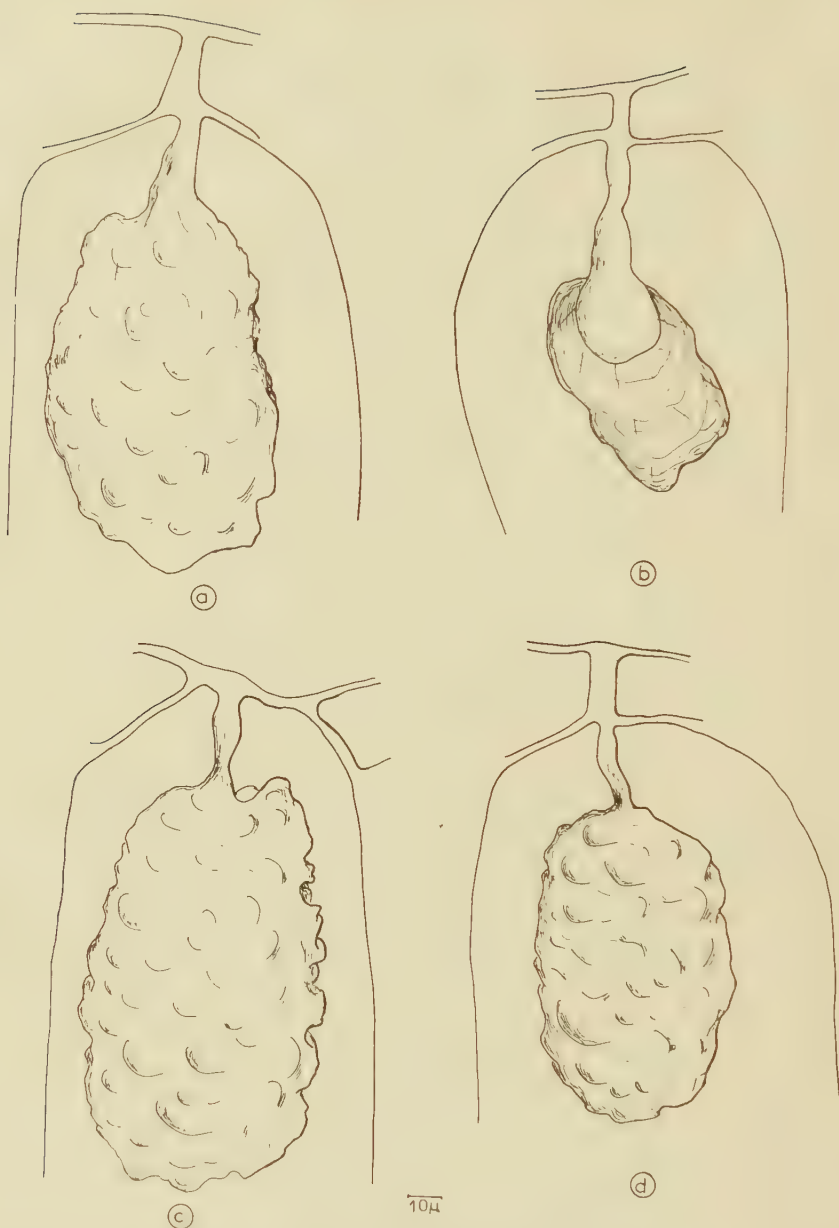


Fig. 21. — Cystolithes de *Ficus elastica* (Moracée).
 Feuille F_4 : a) Cystolithe du sommet de la feuille.
 b) Cystolithe de la base de la feuille.
 Feuille F_7 : c) Cystolithe du sommet de la feuille.
 d) Cystolithe de la base de la feuille.

On voit qu'au fur et à mesure du vieillissement les différences dans la taille et la calcification des Cystolithes s'atténuent.

TABLEAU XIV

Mesures comparatives des cystolithes pris à différents niveaux d'une feuille quelconque de *Ficus elastica* (Moyennes sur 30 mesures)

Désignation des feuilles	Région du limbe observée	Longueur (en μ)	Largeur (en μ)
F ₄	Sommet	106 $\pm$ 3,8	70 $\pm$ 3,2
	Région médiane	102 $\pm$ 2,9	69 $\pm$ 3,3
	Base	83 $\pm$ 4,9	53 $\pm$ 3,2
F ₇	Sommet	106 $\pm$ 2,5	73 $\pm$ 2,5
	Région médiane	106 $\pm$ 2,5	78 $\pm$ 3,0
	Base	88 $\pm$ 5,5	63 $\pm$ 3,9

2) CAS DU *Parietaria officinalis*

Nous avons étudié cette plante :

- En observant des radiographies de feuilles ;
- Par des mensurations de cystolithes ;
- Par de simples observations microscopiques.

a) Radiographies.

Dans tous les cas observés, les cystolithes qui se trouvent à un même niveau d'une feuille, mais de part et d'autre de la nervure principale, sont sensiblement de même taille.

Les cystolithes du sommet de la feuille sont beaucoup plus volumineux que ceux de la base (Planche II A et B).

b) Mensurations des cystolithes.

De forme sensiblement sphérique, ils sont suffisamment caractérisés par leur diamètre.

a) Cystolithes placés symétriquement par rapport à la nervure principale : Pour un même éloignement de la base ou du sommet de la feuille, ils sont à des stades d'évolution comparables (tabl. XV).

TABLEAU XV

Mesures comparatives des cystolithes pris à un même niveau d'une feuille quelconque de *Parietaria officinalis* mais de part et d'autre de sa nervure principale
(Moyennes sur 50 mesures)

	Diamètre (en μ)	
	Côté droit de la nervure principale	Côté gauche de la nervure principale
1ère feuille observée	$65 \pm 1,8$	$66 \pm 1,5$
2ème feuille observée	$66 \pm 1,5$	$66 \pm 1,5$

β) *Cystolithes placés à différents niveaux d'une même feuille* : Les moyennes obtenues (tabl. XVI) sont statistiquement différentes les unes des autres. Ceci confirme les observations faites sur les radiographies.

TABLEAU XVI

Taille des cystolithes situés à différents niveaux d'une feuille quelconque de *Parietaria officinalis*

	Diamètre (en μ)		
	Sommet du limbe (moyenne sur 40 mesures)	Région médiane (moyenne sur 30 mesures)	Région pétioleaire (moyenne sur 20 mesures)
1ère feuille observée	$54 \pm 1,5$	$48 \pm 2,3$	$39 \pm 5,4$
2ème feuille observée	$54 \pm 1,5$	$42 \pm 2,3$	$39 \pm 5,4$

De plus, le tableau XVII montre que le rapport — dimension des cystolithes de la base sur dimension des cystolithes du sommet — augmente lorsque la feuille considérée s'éloigne du bourgeon.

TABLEAU XVII

Tailles comparatives des cystolithes de la base et du sommet du limbe dans plusieurs feuilles d'un même plant de *Parietaria officinalis*
(Moyenne sur chaque fois 50 mesures)

Feuille observée	Diamètre (en μ)		Rapport du diamètre des cystolithes de la base à ceux du sommet (en %)
	Sommet du limbe	Base du limbe	
F ₆	45	25	55
F ₇	55	32	58
F ₈	56	34	60
F ₉	56	39	69
F ₁₀	58	45	77
F ₁₁	59	48	81
F ₁₆	59	56	94

c) Observations microscopiques.

Ces observations ont été faites sur des coupes perpendiculaires à la surface du limbe et parallèles ou perpendiculaires à la nervure principale.

On voit que :

— Dans le cas des coupes perpendiculaires à la nervure principale, les cystolithes sont tous au même stade d'évolution. Or, les cystolithes, ici, sont tous à la même distance du pétiole de la feuille considérée.

— Dans le cas des coupes parallèles à la nervure principale (fig. 22) certains cystolithes sont beaucoup plus calcifiés que d'autres. Or, ce sont ceux précisément qui se trouvent le plus près de la pointe de la feuille.

De plus, la figure 22 montre bien comment les différences de taille s'atténuent lorsque la distance des feuilles au bourgeon augmente. En effet, pour une différence de diamètre relativement faible des cystolithes de la pointe du limbe on voit que les cystolithes de la région pétioleaire des feuilles F₁₆ sont beaucoup plus calcifiés que ceux d'une feuille F₇ par exemple.

3) CAS DU *Ruellia strepens*

Les feuilles radiographiées possèdent des cystolithes de taille diverse, sans que l'on puisse distinguer des zones nettes. Cependant, il semble que

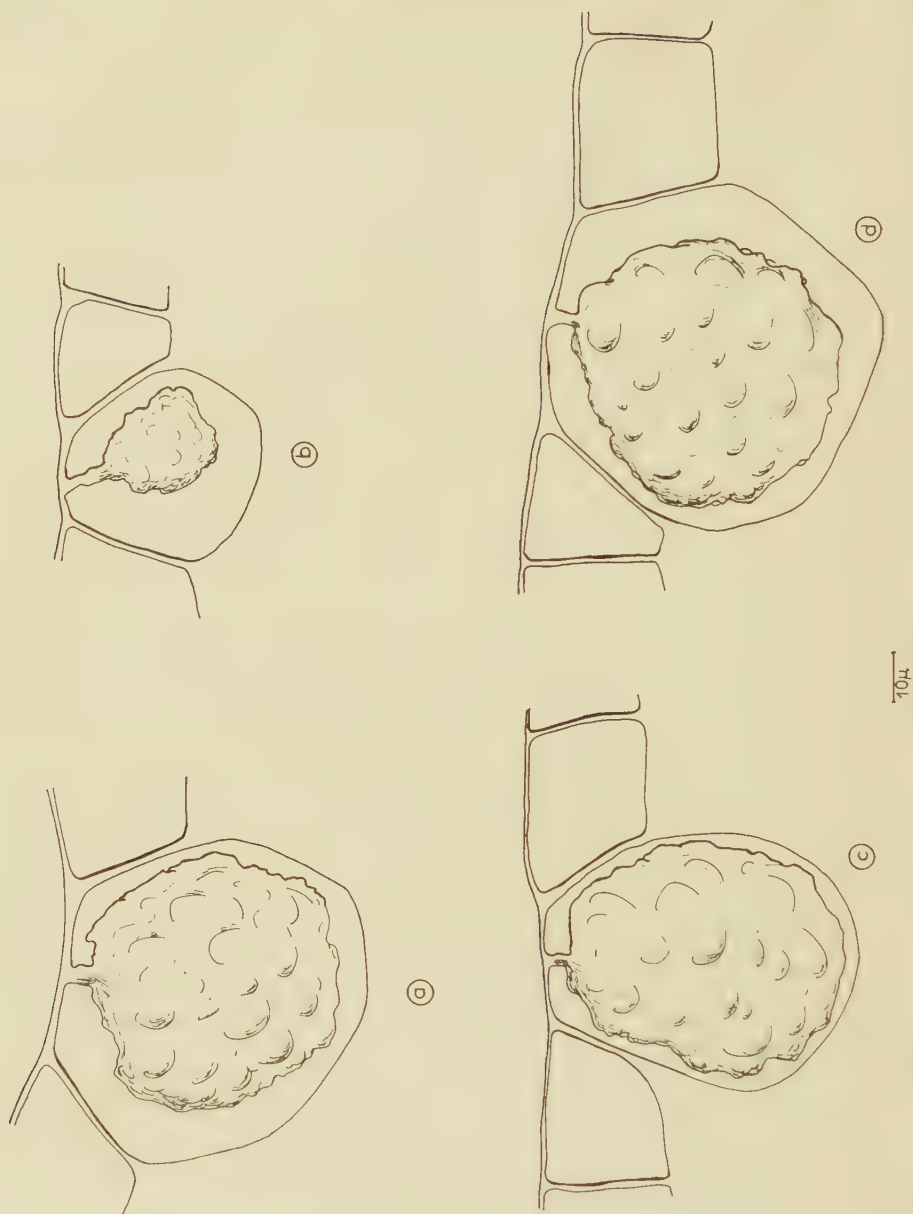


Fig. 22. — Cystolithes de *Parietaria officinalis* (Urticacée).

Feuille F_7 : a) Cystolithe du sommet de la feuille.

b) Cystolithe de la base de la feuille.

Feuille F_{16} : c) Cystolithe du sommet de la feuille.

d) Cystolithe de la base de la feuille.

On voit que les différences de taille entre les cystolithes de la base et du sommet du limbe s'atténuent lorsque la distance des feuilles au bourgeon principal augmente.

les cystolithes du bord du limbe soient plus volumineux que les autres. Ceux du sommet sont eux-mêmes plus gros que ceux du centre ou de la base de la feuille (Planche III). Pour une même zone cependant, leur taille est tellement variable que les mensurations se sont révélées inutilisables.

*
* *

Le *Ficus elastica* et le *Parietaria officinalis* se comportent de la même façon au point de vue de la différenciation de leurs cystolithes. Ces derniers sont plus volumineux à la pointe de la feuille que dans sa région pétiolaire. L'étude de cette différenciation est très difficile à faire pour le *Ruellia strepens*, car on trouve en tous points des cystolithes de taille différente et l'on distingue simplement que ceux de la périphérie du limbe sont plus développés que les autres. Dans les trois cas examinés cependant, les cystolithes ne sont pas tous de la même grosseur, ce qui est en accord avec le fait que leur nombre n'est pas fixe pour une feuille donnée.

B. — Densité des cystolithes à l'intérieur d'une même feuille

Nous avons dénombré les cystolithes compris dans le champ du microscope, ceci à différents niveaux d'une même feuille. Cette étude n'a pas pu être faite sur le *Ficus elastica* dont le limbe est trop épais pour pouvoir être observé par transparence sous le microscope. De même, le *Ruellia strepens* n'a pas été étudié, car les petits cystolithes peuvent échapper à l'observation microscopique, ce qui fausse les résultats.

Seul donc le *Parietaria officinalis* a été considéré. Mais, là encore, les calculs n'ont pu être faits que sur des feuilles adultes, les cystolithes de la base des feuilles jeunes étant insuffisamment calcifiés pour être visibles au microscope.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau XVIII. Ils mon-

TABLEAU XVIII

Nombre de cystolithes contenus dans le champ du microscope
(Moyennes sur 25 mesures)

	Région du limbe examinée		
	Sommet	Région médiane	Région pétiolaire
1 ^{ère} feuille observée	24 ± 3,5	23 ± 1,0	19 ± 1,0
2 ^{ème} feuille observée	16 ± 1,0	16 ± 1,4	12 ± 0,7

trent que la différence de densité des cystolithes n'est pas significative entre la pointe et la région médiane des feuilles, mais elle l'est entre ces deux régions et la base de ces mêmes feuilles.

En résumé, dans le cas du *Parietaria officinalis* au moins, la partie basale des feuilles est la moins riche en carbonate de calcium. Dans cette région, en effet, les cystolithes sont plus petits que partout ailleurs et ils sont toujours moins nombreux par unité de surface que dans les régions médiane et sommitale de ces mêmes feuilles.

III. — TAILLE DES CYSTOLITHES EN FONCTION DE L'ÂGE DES FEUILLES ET DE LEUR DÉVELOPPEMENT

Une question reste à résoudre : celle de l'évolution des cystolithes. La taille des cystolithes dans deux plantes semblables est-elle fonction de l'âge des feuilles ou de leur développement ? (ce dernier, que l'on peut apprécier par la surface des feuilles, est fonction non seulement de l'âge mais de différents facteurs et en particulier de la nutrition : âge et surface des feuilles n'ont en effet que très peu de rapport). Pour aborder ce problème, des mesures ont été effectuées sur des feuilles de *Parietaria officinalis* L. placées dans des conditions diverses.

A. — Feuilles de même surface, également éloignées du bourgeon principal et prises sur deux pieds de même âge cultivés sur un même milieu

Les expériences ont été faites sur des Pariétaires cultivées sur de la silice pure arrosée de la même quantité de Knop. Les feuilles F_7 , F_8 , F_9 , de deux plantes de taille comparable ont été prélevées. On se trouve ainsi en présence de trois couples de feuilles F_7 (1) F_7 (2), F_8 (1) F_8 (2), F_9 (1) F_9 (2), et les feuilles de chaque couple sont approximativement de même surface. Enfin, nous avons mesuré les cystolithes du sommet et de la base de chaque feuille et avons comparé les résultats (tabl. XIX).

Dans l'ensemble, les cystolithes du deuxième échantillon sont légèrement plus volumineux que ceux du premier. Cependant les différences ne sont pas significatives.

TABLEAU XIX

Diamètre en μ des cystolithes des feuilles de surface comparable,
également éloignées du bourgeon principal
et prises sur deux pieds de Pariétaires ayant poussé sur un même milieu
(Moyennes sur 50 mesures)

Feuille	Plant	Région du limbe observée	
		Base	Sommet
F ₇	1	Pas mesurables	44 $\pm$ 2,4
	2	" "	46 $\pm$ 1,4
F ₈	1	30 $\pm$ 1,5	52 $\pm$ 1,1
	2	30 $\pm$ 1,2	54 $\pm$ 1,2
F ₉	1	48 $\pm$ 1,0	50 $\pm$ 1,4
	2	50 $\pm$ 1,1	54 $\pm$ 1,6

On peut donc admettre que deux feuilles de même surface, également éloignées du bourgeon principal, et prises sur des plantes de même âge cultivées dans des conditions identiques, ont des cystolithes également développés.

B. — Feuilles de même surface

prises sur des plants cultivés dans les mêmes conditions, mais d'âge différent

Les pieds utilisés ont respectivement un mois et demi et deux mois et sont cultivés sur de la silice imbibée de Knop. Les Pariétaires de un mois et demi sont naturellement moins développées que celles de deux mois. Aussi les feuilles de même surface, prélevées sur des pieds d'âge différent, sont-elles à des distances différentes du bourgeon terminal. C'est ainsi que les couples de feuilles étudiées sont :

— d'une part :

F₅ (deux mois), F₇ (un mois et demi), de surface S ;

— d'autre part :

F₄ (deux mois), F₈ (un mois et demi), de surface S'.

Le tableau XX indique les diamètres respectifs des cystolithes de ces

couples de feuilles, diamètre mesuré à la base et au sommet de chaque feuille. Son examen montre que les cystolithes des feuilles F_5 et F_4 , prélevées sur des plants de deux mois, ne sont pas suffisamment calcifiés pour être mesurables. Au contraire, les cystolithes du sommet des feuilles F_7 et F_8 des plantes de un mois et demi sont déjà très volumineux.

TABLEAU XX

Diamètre exprimé en μ des cystolithes de feuilles ayant deux à deux des surfaces comparables, mais prises sur des pieds de *Pariétaires* de 1 mois et demi et 2 mois

(Moyennes sur 50 mesures)

Surface	Feuille observée	Age des plants sur lesquels ont été prises les feuilles	Région du limbe observée	
			Base	Sommet
S	F_5	2 mois	Non mesurables	Non mesurables
	F_7	1 mois $\frac{1}{2}$	" "	$44 \pm 1,3$
S'	F_4	2 mois	Non mesurables	Non mesurables
	F_8	1 mois $\frac{1}{2}$	" "	$50 \pm 1,2$

De ces observations on peut conclure que le dépôt de carbonate de calcium sur les cystolithes n'est pas fonction de la surface d'une feuille donnée, mais de son degré d'éloignement par rapport au bourgeon principal, par conséquent de son âge par rapport à la plante.

C. — Feuilles différentes d'un même plant

Cette expérience a été faite pour vérifier si la croissance des feuilles n'a réellement aucun rôle sur les dépôts de carbonate de calcium. En effet, il arrive fréquemment que sur une même plante les feuilles évoluent différemment les unes des autres. Ainsi, une feuille quelconque peut être stoppée dans sa croissance et avoir, par conséquent, une surface plus faible que celle des feuilles situées immédiatement au-dessus d'elle.

Sur l'un de nos plants de *Parietaria officinalis* la feuille F_{10} avait à peu près la même surface que F_5 , mais était nettement moins développée que F_6 . Par comparaison des cystolithes de ces trois feuilles (tabl. XXI) nous voyons que :

— F_5 a des cystolithes peu ou pas calcifiés, cependant que dans F_{10} ils le sont très nettement et atteignent au sommet $50\ \mu$.

— Les cystolithes du sommet de F_6 sont légèrement plus volumineux que ceux de la même région de F_{10} . Mais, la région pétioleaire de cette même feuille n'a pas encore de cystolithes calcifiés alors qu'ils atteignent déjà $42\ \mu$ dans la région pétioleaire de F_{10} .

TABLEAU XXI

Diamètre exprimé en μ des cystolithes de différentes feuilles de *Pariétaires*
(Moyennes sur 50 mesures)

Désignation des feuilles	Région du limbe observée	
	Base	Sommet
F_5	Non mesurables	Non mesurables
F_6	" "	$56 \pm 1,3$
F_{10}	$42 \pm 1,0$	$50 \pm 1,3$

Là encore on peut conclure que la croissance des cystolithes n'est pas fonction de la surface mais de l'âge des feuilles, puisque deux feuilles également développées F_5 et F_{10} , d'un plant donné, ont des cystolithes de taille très nettement différente.

Il est vrai que les cystolithes du sommet de F_6 sont légèrement plus volumineux que ceux de F_{10} , ce qui prouve que le dépôt de carbonate de calcium a été ralenti, en même temps que la croissance de la feuille a elle-même diminué. Cependant ce dépôt n'a pas cessé de se faire puisque les cystolithes de la région pétioleaire de F_{10} atteignent déjà $42\ \mu$, alors qu'ils ne sont pas encore calcifiés dans F_6 qui, cependant, est plus développée. On ne peut donc pas affirmer que la précipitation du carbonate de calcium sur les cystolithes n'est pas fonction de la croissance des feuilles, mais il est très net qu'elle n'est qu'une cause secondaire de cette précipitation.

D. — Feuilles de même surface prises sur des plants de même âge mais cultivés sur des milieux différents

Le milieu agit fortement sur le développement des plantes. En particulier, des milieux de concentration différente en calcium interviennent sur la croissance des Végétaux, et il y a de fortes chances que, dans le cas du *Parietaria officinalis*, ils interviennent également sur la croissance de ses cystolithes.

Pour vérifier ceci, nous avons prélevé des feuilles de même surface sur des plants de *Parietaria officinalis* cultivés, d'une part sur du Knop à 2,1 mI Ca^{++} (Knop dilué de son volume d'eau), d'autre part sur un même volume de Knop dans lequel une partie du nitrate de calcium est remplacée par du nitrate de sodium afin d'avoir une concentration en Ca^{++} de 0,5 mI. Les Pariétaires cultivées sur Knop carencé en Ca se développent moins rapidement que les autres. Aussi, les feuilles de même surface choisies sont : F_4 pour les Pariétaires cultivées sur le Knop à 2,1 mI Ca^{++} , et F_8 pour les autres.

Les résultats statistiques (tabl. XXII), ainsi que de simples observations microscopiques, montrent que les cystolithes de F_4 sont beaucoup plus petits que ceux de F_8 du plant carencé en calcium.

TABLEAU XXII

Diamètre exprimé en μ des cystolithes de deux feuilles de surface identique, prélevées sur des pieds de Pariétaires, de même âge mais cultivés sur un milieu à 2,1 ou à 0,5 mI Ca^{++} (Moyennes sur 40 mesures)

Concentration du milieu de culture (en mI Ca^{++})	Désignation des feuilles	Région du limbe observée	
		Base	Sommet
2,1	F_4	Non mesurables	$34 \pm 0,8$
0,5	F_8	$34 \pm 1,0$	$56 \pm 1,4$

Cependant, si l'on compare les deux feuilles F_8 de ces deux mêmes pieds de Pariétaires, on constate (tabl. XXIII) que les cystolithes les plus volu-

TABLEAU XXIII

Diamètre exprimé en μ des cystolithes de deux feuilles F_8 de Pariétaires prises sur des plants de même âge, mais cultivés le 1^{er} sur un milieu à 2,1 mI Ca^{++} , et le 2^e sur un milieu à 0,5 mI Ca^{++} (Moyennes sur 40 mesures)

Concentration du milieu de culture (en mI Ca^{++})	Désignation des feuilles	Région du limbe observée	
		Base	Sommet
2,1	F_8	$42 \pm 0,9$	$66 \pm 1,2$
0,5	F_8	$34 \pm 1,0$	$56 \pm 1,4$

mineux sont ceux de la feuille ayant poussé sur le milieu le plus riche en Ca^{++} .

Là encore, c'est la distance de la feuille au bourgeon terminal (indice de leur âge) qui paraît être le facteur le plus important de la calcification. Mais il serait faux de penser que le milieu n'intervient pas, puisque des feuilles de même âge ont des cystolithes d'autant plus volumineux que le milieu de culture est plus riche en calcium.

IV. — DISCUSSION

Les observations microscopiques, et les numérations de cystolithes, permettent de conclure catégoriquement que ces derniers se différencient au cours de la croissance des feuilles. Comment, dans ces conditions, expliquer que HILTZ ait conclu que les cystolithes d'une même feuille sont au même stade d'évolution ? On remarquera tout d'abord que ses observations ont porté sur le *Ficus elastica* dont les feuilles sont de grandes dimensions. On a donc tendance, dans ce cas, à prendre des échantillons dans les zones moyennes du limbe. Or, c'est en faisant des coupes à ses deux extrémités (base et sommet) qu'on voit très nettement, au microscope, la différence de grosseur et d'aspect des cystolithes. De plus, si cette différence est très nette dans les jeunes feuilles, elle s'atténue dans les feuilles âgées. Or, on a plus souvent tendance à faire des coupes sur des feuilles adultes que sur des feuilles nouvellement formées.

Donc, les cystolithes se forment peu à peu au cours de la croissance de la feuille. Remarquons, cependant, que le pourcentage de cellules à cystolithes par rapport au nombre total de cellules diminue au cours de cette même croissance. Il faut admettre que beaucoup de lithocystes se différencient dans les très jeunes feuilles, mais qu'ensuite il en prend naissance de moins en moins au cours de la croissance ultérieure de ces dernières. Reste à savoir si, dans les feuilles totalement adultes, de nouvelles cellules peuvent se différencier. Cela paraît peu probable. Nous verrons en effet dans la partie physiologique de ce travail que, si l'on augmente la quantité de calcium en très forte proportion dans le milieu extérieur, le calcium soluble est considérablement augmenté, mais le calcium des cystolithes l'est fort peu et atteint bientôt un palier. Il y a donc des limites à la formation et à la grosseur des cystolithes, et l'on peut penser que leur différenciation est liée aux mitoses, nombreuses dans les jeunes feuilles, mais fortement ralenties et peut-être même stoppées dans les feuilles adultes.

L'étude de la répartition des cystolithes dans les différentes parties d'une même feuille s'est révélée la plus intéressante au point de vue du mécanisme de la calcification. Elle a permis de mettre en évidence que, chez

le *Ficus elastica* et le *Parietaria officinalis*, c'est à la base du limbe, c'est-à-dire dans la région proche du pétiole, que les cystolithes sont le plus petits et dans la pointe qu'ils sont le plus gros. Pour le *Ruellia strepens* (Acanthacée), les cystolithes les plus volumineux sont situés sur les bords du limbe.

Considérons, tout d'abord, le cas du *Ficus elastica* et du *Parietaria officinalis*. Si l'on admettait que les plus petits cystolithes sont aussi les plus jeunes, on serait conduit à conclure que c'est dans la région basale que se produit la croissance du limbe, ce qui est faux. En effet, en traçant à la gouache, sur une feuille nouvellement formée de *Ficus elastica*, des traits parallèles et perpendiculaires à la nervure principale et tous espacés de 1 cm, on constate qu'au fur et à mesure que la feuille grandit la distance entre deux traits consécutifs s'agrandit partout de la même valeur. Par conséquent, la croissance de la feuille se fait de façon relativement uniforme sur toute sa surface. AVERY (1933) trouve des résultats semblables pour les feuilles de Tabac et des observations sommaires permettent de penser qu'il en est de même pour la Pariétaire. Ceci permet de conclure que la différence de taille entre les cystolithes de la base et du sommet d'une feuille ne correspond pas forcément à une différence d'âge de ceux-ci.

Si la taille des cystolithes n'est pas uniquement fonction de leur âge, elle doit traduire la manière dont le limbe foliaire fixe le calcium transporté par les faisceaux libéro-ligneux. Par suite du flux nutritif, cet élément doit être tout d'abord fixé en plus grande quantité dans la pointe du limbe. Puis, au fur et à mesure que les cystolithes de ces régions sont « saturés en calcium », les autres régions du limbe entreposent à leur tour cet élément, ce qui explique que les différences de taille des cystolithes sont très atténuées lorsque les feuilles sont adultes.

Nous pouvons rapprocher ces observations de celles d'ABUTALYBOV, qui avait constaté que l'oxalate de calcium dans l'*Elodea Canadensis* se forme surtout à la pointe des feuilles (1956).

C'est sans doute par suite de la précipitation différentielle du calcium insoluble à l'extrémité des feuilles que la plante différencie moins de cystolithes à la base qu'au sommet du limbe plus riche en calcium.

Considérons maintenant le cas du *Ruellia strepens*. Les cystolithes les plus gros sont situés sur la périphérie du limbe, ce qui permet de supposer, dans ce cas, que le calcium doit circuler principalement par les nervures secondaires latérales. Ici, la calcification s'opérerait de la périphérie vers le centre des feuilles, tandis que dans le cas général elle se fait du sommet vers la base.

Un fait cependant reste à éclaircir. Si les différences de taille des cystolithes ne proviennent pas forcément de leur différence d'âge, l'inverse n'est pas concevable, et des cystolithes nouvellement formés doivent être plus

petits que leurs voisins bien différenciés. Ceci surtout dans la région de forte calcification. Or, nous avons dit que les cystolithes d'une même région du limbe sont au même stade d'évolution. En fait, les observations microscopiques, et l'examen des valeurs relevées au cours des mensurations, montrent qu'un nombre restreint d'entre eux ont des tailles plus faibles que leurs voisins. De plus, il nous a été possible de trouver, parmi les cystolithes calcifiés, quelques cas de cystolithes à l'état de pédicelle dans la pointe du limbe. Mais nous n'en avons jamais trouvé à l'état de trame, ce qui semble indiquer que la calcification se fait très rapidement aussitôt que l'un d'eux se différencie.

Les expériences entreprises sur la taille des cystolithes, en fonction de l'âge des feuilles d'un plant donné, confirment encore les observations d'ABUTALYBOV (1956) et celle d'OKUDA et coll. 1956, à savoir que « les feuilles accumulent d'autant plus de calcium insoluble qu'elles sont plus âgées ». Elles sont en accord également avec les travaux de THODAY et EVANS qui mentionnent que les méristèmes sont moins riches en ions Ca^{++} que les autres parties d'une plante (1932) et avec ceux de BHATIA qui précisent que l'accroissement du calcium foliaire résulte de son accumulation sous forme immobile (1955). La taille des cystolithes est donc, en grande partie, fonction de la distance des feuilles au bourgeon terminal, mais elle est également fonction de leur croissance, car une feuille gênée dans son développement sera moins calcifiée qu'une feuille normale.

La richesse du milieu en élément calcium intervient aussi dans la calcification des cystolithes. Ainsi, des feuilles également éloignées du bourgeon principal, et prises sur des plants de même âge mais ayant poussé sur des milieux à 0,5 et 2,1 mI Ca^{++} , seront d'autant plus calcifiées que le milieu sera plus riche en calcium.

Malgré ces restrictions, le facteur le plus important de la calcification est bien l'âge physiologique des feuilles, c'est-à-dire leur degré d'éloignement par rapport au bourgeon principal. Ce facteur est tellement important qu'il arrive, bien souvent, à masquer l'action de la croissance des feuilles et l'influence du milieu sur lequel sont cultivés les plants. C'est ainsi que des feuilles F_7 et F_8 prises sur des Pariétaires de 1 mois 1/2 ont des cystolithes plus volumineux que les feuilles de même surface F_4 et F_5 recueillies sur des Pariétaires de 2 mois, donc plus âgées que les précédentes. De même, dans les expériences faites sur des milieux différents, F_8 des Pariétaires cultivées sur un milieu pauvre en calcium a des cystolithes plus calcifiés qu'une feuille de même surface F_4 provenant d'un plant cultivé sur un milieu riche en calcium. Comment expliquer ces résultats ?

Dans la première expérience, les feuilles F_7 et F_8 , prises sur les Pariétaires les plus jeunes (1 mois 1/2), se sont dégagées du bourgeon avant les feuilles F_4 et F_5 de même surface, prises sur les plants les plus âgés (2 mois),

elles peuvent donc être considérées comme adultes comparativement à ces dernières. Comme de plus nous avons dit que le calcium des cystolithes augmente des feuilles les plus jeunes vers les feuilles les plus adultes, ceci explique que, malgré l'âge respectif des plants, ce soient les feuilles les plus éloignées du bourgeon qui présentent les cystolithes les plus volumineux. En outre, la différenciation de nouveaux cystolithes étant ralentie dans les feuilles adultes, le CaCO_3 élaboré par F_7 ou F_8 des Pariétaires de 1 mois 1/2 sature peu à peu leurs cystolithes qui augmentent considérablement de volume. Dans F_4 et F_5 des Pariétaires de 2 mois, au contraire, le CaCO_3 se répartit sur les cystolithes nouvellement formés. Le même raisonnement permet d'expliquer les résultats obtenus dans la deuxième expérience. Ainsi, pour discerner l'influence du milieu de culture sur la calcification des cystolithes, faut-il comparer non des feuilles également développées, mais des feuilles de même âge physiologique, c'est-à-dire également éloignées du bourgeon principal.

CHAPITRE IV

NATURE CHIMIQUE DES CYSTOLITHES

La nature chimique des cystolithes ayant fait l'objet de nombreuses controverses, nous avons essayé de l'étudier par des moyens physiques et chimiques variés afin d'avoir des résultats plus complets.

Les seules recherches modernes sur la constitution chimique des cystolithes ont été faites par HILTZ sur le *Ficus elastica* (1949 et 1951). Nous avons tenté de généraliser ses conclusions en prenant des cystolithes d'aspect et d'origine différents.

I. — ETUDE DES CYSTOLITHES AVANT DECALCIFICATION

A. — Comportement optique

1) CYSTOLITHES DES VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS

Nous avons vu dans l'historique que le comportement optique des cystolithes a donné lieu à des conclusions totalement opposées. Pour les uns, ils sont biréfringents, pour les autres, ils sont optiquement vides. Des observations vitales ou des observations faites sur une poudre de cystolithes nous ont permis de voir que :

— Les cystolithes globuleux ne présentent aucune biréfringence entre nicols croisés (*Parietaria officinalis*, *Ficus sycomorus*, *Broussonetia papyrifera*, *Ficus elastica*).

— Les cystolithes fusiformes tels que ceux du *Pilea cadieri* et du *Ruellia strepens* ont souvent une forte biréfringence, surtout dans le cas du *Pilea*. Mais celle-ci n'est pas altérée par l'acide chlorhydrique qui détruit le calcaire des cystolithes. De plus, les franges de Becke, caractéristiques des corps cristallisés, n'apparaissent pas à l'examen en lumière polarisée. Ces faits se retrouvent aussi bien dans les cystolithes des feuilles que dans ceux des tiges ou, pour le *Ruellia*, dans ceux des racines. Il semble donc que cette biréfringence provienne de la trame et non du calcaire des cystolithes.

2) CYSTOLITHES DES ALGUES

Contrairement à tous les cas observés jusqu'à présent, les cystolithes du *Peyssonnelia rubra* font très nettement dévier la lumière lorsqu'ils sont observés entre nicols croisés. Ce phénomène disparaît peu à peu au fur et à mesure qu'ils se décalcifient par action d'un acide dilué, tel que l'acide acétique. Il semble donc que le carbonate de calcium se présente là, non plus sous forme amorphe, mais sous une forme cristallisée qu'il faut préciser. Nous n'avons pu apercevoir des franges de Becke, mais la taille très petite de ces cystolithes peut être la cause de ce résultat.

3) DÉPÔTS CALCAIRES EN AMAS

Ceux du *Cerintho major* ne présentent aucune biréfringence.

B. — Structure aux rayons X

1) CYSTOLITHES DES VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS

— Les cystolithes globuleux, non biréfringents en lumière polarisée, donnent des diagrammes de rayons X qui confirment les observations microscopiques. Ces diagrammes ne présentent, en effet, aucune raie, ce qui indique bien l'absence de toute substance cristalline.

— Les cystolithes fusiformes du *Pilea* et du *Ruellia*, qui sont biréfringents, ne donnent pas non plus de diagrammes positifs et ne sont donc pas cristallisés. Ce résultat se retrouve pour les cystolithes de tous les organes dans lesquels ils sont présents.

2) CYSTOLITHES DES ALGUES

Les diagrammes des cystolithes du *Peyssonnelia rubra*, obtenus soit à l'aide d'un cristallobloc, soit par la méthode du cristal tournant, présentent des raies caractéristiques qu'il est possible d'identifier à celles de l'aragonite (Planche IV B).

C. — Résultats des spectres infra-rouges

Les spectres des *Ruellia*, *Broussonetia*, *Pilea* et *Parietaria* que nous avons établis présentent tous la large raie des carbonates au-delà de 1.350 cm^{-1} . Sur tous on retrouve une raie vers $860\text{-}865\text{ cm}^{-1}$ ainsi que vers $1.078\text{-}1.080\text{ cm}^{-1}$ (fig. 23). Or, les études de POBEGUIN sur les différents calcaires montrent que ces deux raies sont caractéristiques du calcaire amorphe.

Ces résultats confirment les observations faites en lumière polarisée et aux rayons X.

La taille trop petite des cystolithes du *Peyssonnelia rubra* ne nous a malheureusement pas permis d'avoir une quantité de poudre suffisante pour obtenir, malgré plusieurs essais, un résultat par cette méthode.

D. — Spectrographie

Nous n'avons pu faire établir de spectres d'émission que pour le *Parietaria officinalis* et le *Pilea cadieri*. Nous les avons comparés au spectre du *Ficus elastica* qu'avait fait faire HILTZ.

Les résultats obtenus sur des cystolithes triés au micromanipulateur (tab. XXIV) montrent qu'en dehors du carbonate de calcium un grand nombre d'éléments sont fixés par les cystolithes en quantité plus ou moins forte. Ces éléments sont :

- le Silicium, présent en forte proportion surtout dans les cystolithes du *Ficus elastica* ;
- le Magnésium, vraisemblablement sous forme de $MgCO_3$, dont la valeur est la même dans les trois cas étudiés ;

TABLEAU XXIV

Analyses spectrographiques de différents cystolithes

(Les nombres indiqués correspondent à la quantité en % de la masse des cystolithes)

Éléments chimiques	Végétal étudié		
	<i>Ficus elastica</i>	<i>Pilea cadieri</i>	<i>Parietaria officinalis</i>
Mg	1 à 5	1 à 5	1 à 5
Si	2	0,1 à 1	0,8 à 1
Al	0,5 à 1	0,5 à 1	0,1 à 1
Sr	0,01 à 0,1	0,1	0,1 à 1
Fe	0,01 à 0,1	0,01 à 0,1	0,04
Ti	0,1	0,1 à 1	Inf. à 0,01
Pb	0,01	0,01	0,4
Mn	0,01	0,001	0,01 à 0,1
Cu	0,001 à 0,01	0,001 à 0,01	0,001 à 0,01
Sn			0,07

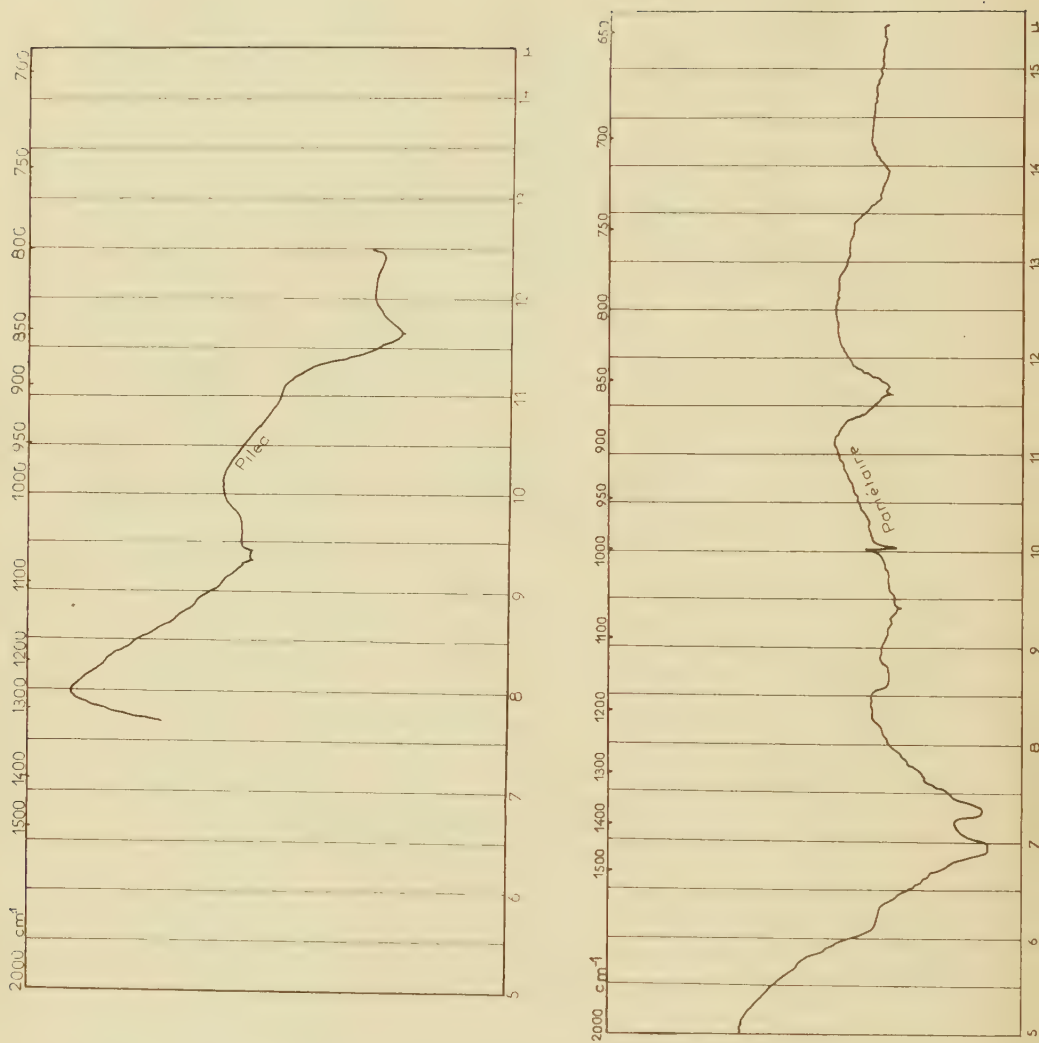
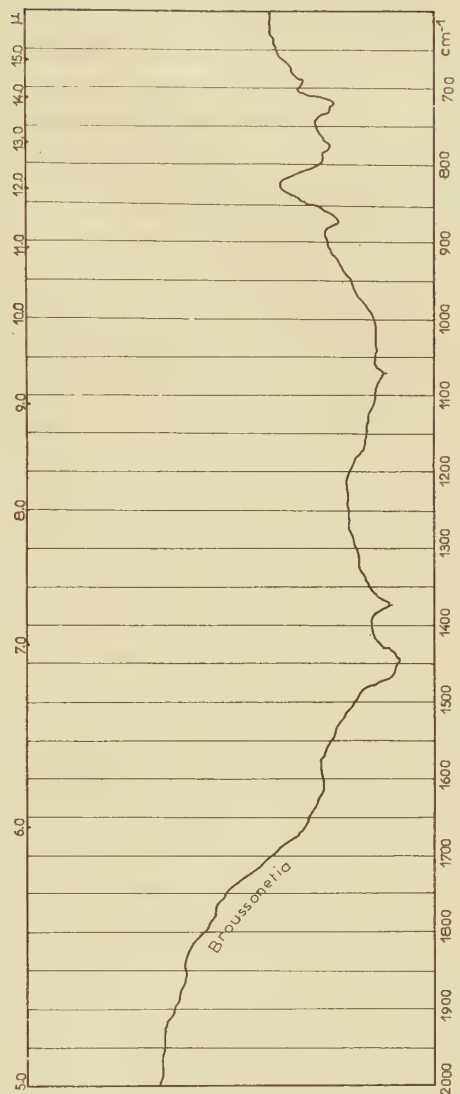
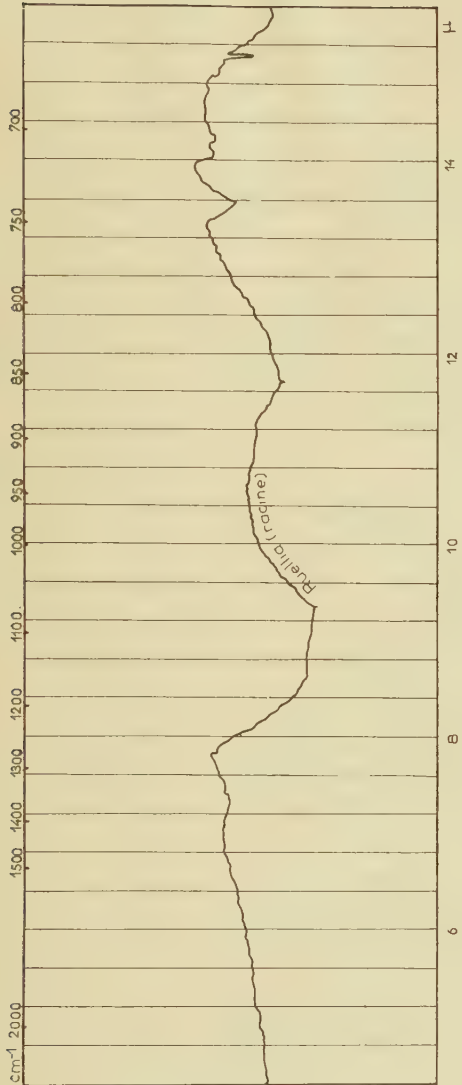


Fig. 23. — Spectres infra-rouges de quelques cystolithes.

Sur tous les spectres on retrouve les raies à $860\text{--}865\text{ cm}^{-1}$ et $1078\text{--}1080\text{ cm}^{-1}$ caractéristiques du calcaire amorphe.



- l'Aluminium ;
- le Strontium, toujours présent, mais en très faible proportion surtout dans le cas du *Ficus elastica*.
- le Titane, le Fer et le Cuivre, dont les quantités faibles sont parfois à la limite de la détection ;
- le Plomb, à peine décelable dans les cystolithes du *Ficus elastica* et du *Pilea cadieri*, mais nettement plus abondant dans le cas du *Parietaria officinalis* ;
- le Manganèse, moins abondant dans les cystolithes du *Pilea* que dans ceux du *Ficus* et du *Parietaria*.

E. — Microincinération

Nous négligerons l'examen des pédicelles, qui seront étudiés sur les cystolithes décalcifiés.

1) CYSTOLITHES DES VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS

— *Cystolithes globuleux*.

L'examen des spodogrammes permet de voir que toutes les membranes ont des incrustations minérales mais celles-ci sont plus importantes au niveau des lithocystes. Cependant, suivant les genres et espèces, la minéralisation globale est plus ou moins abondante. C'est ainsi que chez le *Ficus sycomorus* et le *Broussonetia papyrifera*, les incrustations sont tellement fortes qu'elles constituent un épaississement continu sur la membrane externe des cellules à cystolithes. Chez le *Parietaria officinalis*, au contraire, les lithocystes sont très peu minéralisés.

Le corps du cystolithe forme une masse globuleuse noirâtre sans aucune biréfringence.

Des décalcifications ménagées, à l'aide d'acide acétique très dilué, montrent que :

1°) Les imprégnations ou les épaississements membranaires résistent à l'acide. Ce sont vraisemblablement des composés silicatés plus ou moins abondants selon l'espèce considérée.

2°) A l'emplacement du corps du cystolithe, et épousant la forme de l'ancien dépôt disparu sous l'action de l'acide, se trouve un voile très fin. Sa résistance à l'acide permet de penser qu'il s'agit là d'un fin voile silicaté tel que HILTZ en a trouvé chez le *Ficus elastica*. Il n'a pu être mis en évidence que dans les cystolithes adultes, ce qui semble indiquer, ou bien qu'il se forme tardivement, ou bien qu'il est trop ténu pour résister à une

décalcification même ménagée dans les stades jeunes. Notons également qu'il est très difficile à observer dans la Pariétaire. La figure 24 A montre ces différents cystolithes microincinérés, avant et après décalcification.

— *Cystolithes fusiformes*.

La figure 24 B montre que les mêmes caractéristiques se retrouvent sur les microincinérations du *Ruellia strepens* et du *Pilea cadieri*. Cependant, l'impregnation silicatée des membranes du lithocyste est toujours fort peu abondante.

Après décalcification ménagée des cystolithes adultes microincinérés, on retrouve un fin voile silicaté très réduit. Dans le *Pilea*, on retrouve également la pellicule épaisse déjà observée (cf. p. 158). Sa résistance aux acides et à l'incinération indique qu'elle est vraisemblablement siliceuse (fig. 24 B 3 et 4).

2) CYSTOLITHES DES ALGUES

Dans le cas du *Peyssonnelia rubra*, il nous a été impossible de mettre en évidence un voile silicaté malgré des décalcifications très lentes faites à l'aide d'eau additionnée de CO_2 .

3) DÉPÔTS CALCAIRES EN AMAS

Les membranes dans ce cas sont faiblement minéralisées. Les décalcifications laissent apparaître des bandes de silice qui semblent border les cystolithes comme dans le cas du *Pilea*. Le voile silicaté extrêmement ténu est bien souvent invisible (fig. 24 C).

II. — ÉTUDE DES CYSTOLITHES APRES DECALCIFICATION

A. — Etude des pédicelles

Nous avons vu qu'ils sont plus ou moins importants selon les genres considérés. Très volumineux dans le *Ficus sycomorus*, ils sont très ténus dans le *Pilea* et à peu près inexistants dans le *Cerithe major*.

1) COMPORTEMENT OPTIQUE

Observés au microscope ordinaire, les pédicelles des divers cystolithes n'ont pas le même aspect.

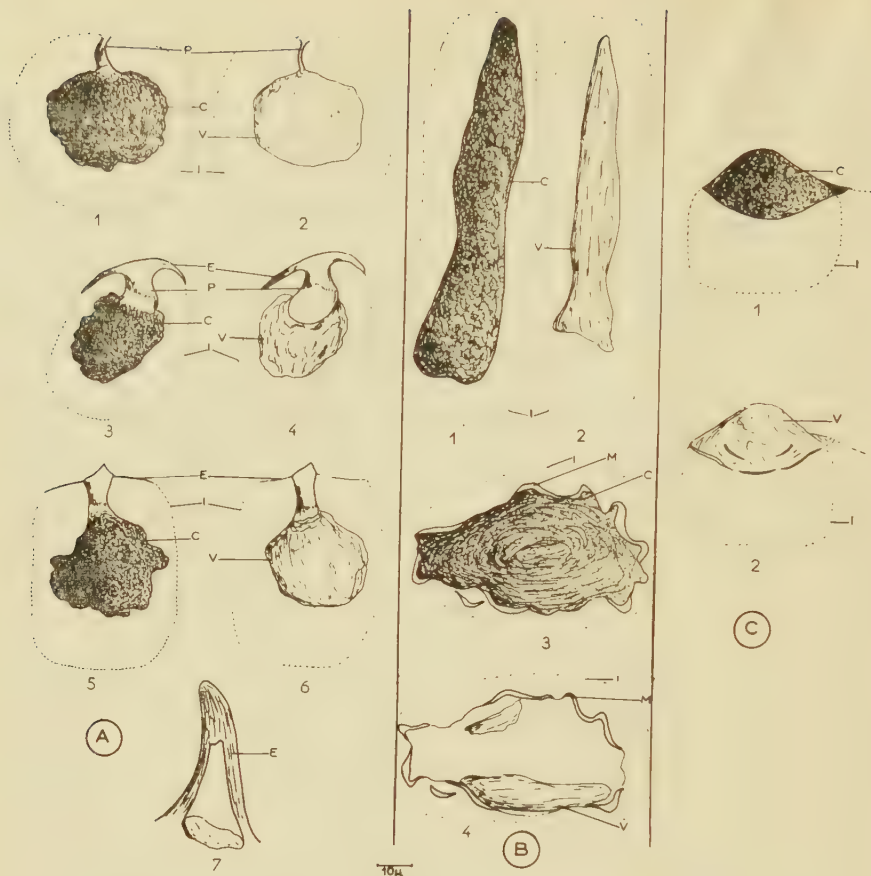


Fig. 24. — Microincinérations.

A) Cystolithes globuleux.

- | | |
|--|-------------------------|
| 1. <i>Parietaria officinalis</i> | : avant décalcification |
| 2. » » » | : après » |
| 3. <i>Broussonetia papyrifera</i> | : avant décalcification |
| 4. » » » | : après » |
| 5. <i>Ficus sycomorus</i> | : avant décalcification |
| 6. » » » | : après » |
| 7. Epaissement d'un poil de <i>Ficus sycomorus</i> | après décalcification. |

B) Cystolithes allongés.

- | | |
|----------------------------|-------------------------|
| 1. <i>Ruellia strepens</i> | : avant décalcification |
| 2. » » » | : après » |
| 3. <i>Pilea cadieri</i> | : avant décalcification |
| 4. » » » | : après » |

On voit ici la membrane externe silicatée, mais le voile silicaté est à peine visible et très réduit (coupe perpendiculaire au corps cystolithique).

C) Epaissement calcaire en amas.

- | | |
|-------------------------|-------------------------|
| 1. <i>Cerinth major</i> | : avant décalcification |
| 2. » » » | : après » |

Une membrane silicatée semble entourer l'épaississement.

P = pédicelle ; C = corps du cystolithe ; M = pellicule silicatée ; V = voile silicaté ; I = incrustations minérales ; E = épaisissements membranaires.

— *Les cystolithes globuleux* ont des pédicelles plus ou moins fortement réfringents. Cette réfringence n'apparaît que peu à peu au cours du développement des cystolithes. Elle commence tout d'abord à l'extrémité du pédicelle, mais gagne bientôt toute sa surface. On verra qu'elle est due à la silice qui les imprègne. Les pédicelles dans la Pariétaire demeurent cependant très peu réfringents durant toute la vie des cystolithes.

— *Les cystolithes fusiformes* ont des pédicelles difficilement visibles et non réfringents. Il en est de même pour ceux du *Peyssonnelia rubra* et pour les dépôts calcaires en amas.

Observés au microscope polarisant, ils sont tous amorphes.

2) NATURE CHIMIQUE

a) Colorations.

— Dans les cystolithes globuleux, les cystolithes jeunes se colorent fortement et uniformément par le rouge de ruthénium. Ils prennent une teinte jaune avec le rouge Congo. Au fur et à mesure que ceux du *Ficus sycomorus* et du *Broussonetia papyrifera* se développent, ces colorations deviennent moins fortes, en particulier aux extrémités de ces pédicelles. Dans les cystolithes adultes de ces deux genres, les pédicelles, observés sur coupes, ne réagissent plus à aucun des colorants employés. Cependant, s'ils sont détachés de la membrane cellulaire, le rouge de ruthénium leur

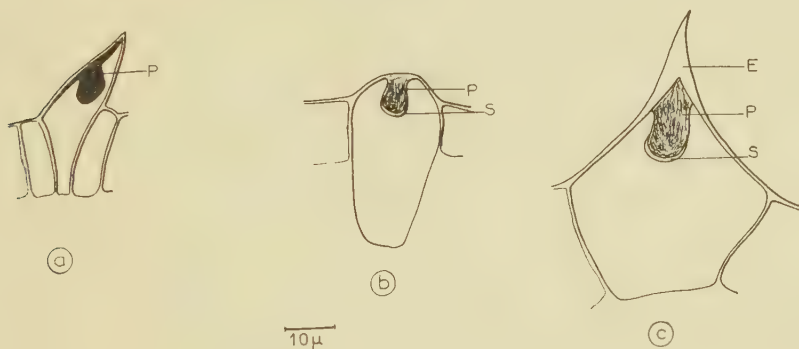


Fig. 25. — Etude du pédicelle des cystolithes du *Ficus sycomorus* (Moracée).

a et b) Coloration au rouge de ruthénium. On voit en b une partie non colorée sur le pédicelle, qui correspond au dépôt silicaté.

c) Pédicelle coloré au bleu C₁ B. Là encore, on voit l'emplacement du dépôt silicaté.

P = pédicelle ; S = dépôt silicaté ; E = épaississement pilifère.

confère une teinte rose. Le rouge Congo, le chlorure de zinc iodé et le bleu Coton C₄B ont également une action positive. Ceci laisse supposer que les pédicelles calloso-pecto-cellulosiques se recouvrent bientôt d'une gaine continue incolore (fig. 25). C'est cette gaine qui empêche la pénétration des colorants dans les pédicelles encore attachés à la membrane cellulaire.

Les pédicelles des cystolithes du *Parietaria officinalis* sont aussi calloso-pecto-cellulosiques, mais demeurent toujours colorables par les différents réactifs.

— Les cystolithes fusiformes jeunes ont des pédicelles également pecto-cellulosiques et très légèrement colorés par le bleu C₄B spécifique de la callose.

— Les mêmes constatations peuvent être faites pour les pédicelles des cystolithes du *Peyssonnelia rubra*, assez nettement visibles avant décalcification, mais qui se confondent souvent avec la trame après action de l'acide acétique.

— Les dépôts calcaires en amas ont des pédicelles, nous l'avons vu, très rudimentaires qui, bien souvent, ne se distinguent pas de la trame. A leur emplacement, cependant, il est possible d'obtenir les colorations des composés calloso-pecto-cellulosiques.

b) Microincinérations (fig. 26).

— *Cystolithes globuleux* :

Les pédicelles très jeunes du *Ficus sycomorus* et du *Broussonetia papyrifera* sont déformés par les microincinérations. Mais, dès qu'ils sont plus âgés, ils ne subissent plus de déformations. C'est qu'ils présentent une imprégnation siliceuse, peu abondante au départ, mais qui forme très tôt un revêtement continu entourant les pédicelles. Et c'est de l'intensité de ce dépôt de silice que dépend l'épaisseur du pédicelle lui-même.

Dans le cas des Pariétaires, les imprégnations sont, au contraire, à peu près inexistantes.

— *Cystolithes fusiformes* :

Aucune microincinération ne nous a permis de retrouver les pédicelles des cystolithes du *Pilea cadieri*. Ceux du *Ruellia strepens* sont également difficiles à observer. Sur une préparation cependant, il semble que ce soit le pédicelle d'un cystolithe qui apparaisse entouré de granulations. Il est constitué par une masse très fine et réfringente, donc silicatée (fig. 26 e).

— *Cystolithes du Peyssonnelia rubra* :

Il n'a jamais été possible de mettre en évidence aucune trace de silice dans les pédicelles courts de ces cystolithes.



Fig. 26. — Pédicelles de cystolithes microincinérés.

a, b, c) *Ficus sycomorus* (Moracée).

d) *Broussonetia papyrifera* (Moracée) ; jeune pédicelle.

e) Pédicelle d'un cystolithe de *Ruellia strepens* (Acanthacée).

f) Dépôts calcaires en amas du *Cerinthe major* (Borraginacée). On voit l'équivalent p du pédicelle.

— Dépôts calcaires en amas :

Comme dans le cas du *Ruellia*, dans les cystolithes décalcifiés du *Cerinthe major*, au centre d'une série de granulations réfringentes se trouve une masse assez réduite et sans nul doute silicatée qui correspond vraisemblablement à l'équivalent d'un pédicelle.

B. — Etude de la trame

Dans tous les cas, elle est formée de couches concentriques, très serrées aux abords du pédicelle, puis de plus en plus lâches en s'éloignant de lui. Dans certains cas, des stries radiales sont également visibles (fig. 27). Mais nous n'avons pas réussi à observer s'il s'agit là d'une trame continue ou non.

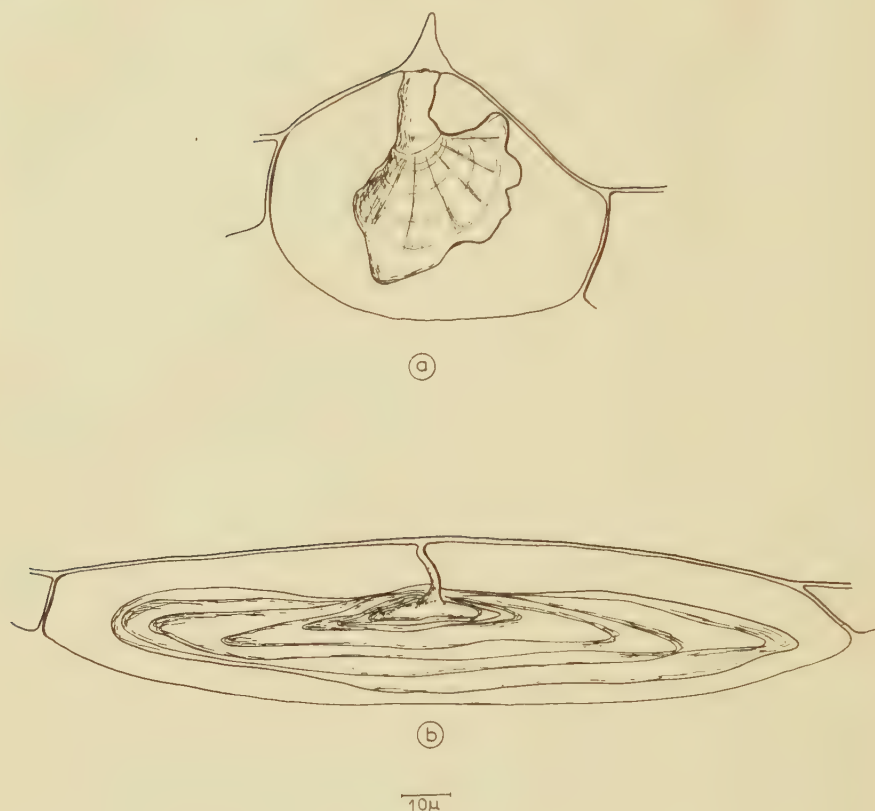


Fig. 27. — Trames de cystolithes décalcifiés.

- a) *Ficus sycomorus*. On voit bien les stries radiales (Sr) et concentriques (Sc) de la trame.
 b) *Pilea cadieri*. On ne voit bien que les stries concentriques qui sont plus serrées près du pédicelle que sur les bords de la trame.

1) COMPORTEMENT OPTIQUE

— *Cystolithes globuleux* :

L'examen en lumière polarisée de cystolithes décalcifiés montre une biréfringence de leur trame qu'on distingue, parfois, à travers la masse carbonatée. Aucune frange de Becke n'est visible cependant, et cette biréfringence ressemble à celle des membranes cellulaires.

— *Cystolithes fusiformes* :

La trame des cystolithes du *Pilea cadieri* a une biréfringence très forte. En général, il est possible de distinguer sur la trame deux ou trois parties

ne s'éteignant pas en même temps. Les molécules ne sont donc pas orientées parallèlement les unes aux autres. Mais elles forment des sortes de fibres disposées en hélice. De plus, dans beaucoup de cystolithes adultes, on retrouve, entourant la trame, la membrane silicatée non biréfringente.

La trame du *Ruellia strepens* est également très biréfringente. Cette biréfringence, cependant, est moins forte que chez le *Pilea cadieri*.

— *Cystolithes du Peyssonnelia rubra* :

Pour mettre une trame en évidence, il a fallu faire des décalcifications ménagées à l'aide d'eau additionnée de CO_2 . Mais elle est toujours très ténue et ne présente aucune biréfringence, peut-être à cause de sa trop faible densité.

— *Dépôts calcaires en amas* :

La biréfringence de la trame, dans le cas du *Cerithe major*, existe, mais elle est très faible.

2) NATURE CHIMIQUE

a) Colorations.

La trame de tous les cystolithes observés se colore par les réactifs de la cellulose, des composés pectiques et de la callose. Dans tous les cas également, les colorations sont plus intenses près du pédicelle, et s'atténuent en gagnant la périphérie. Cependant, la proportion des trois corps — cellulose, composés pectiques et callose — peut varier suivant les espèces. C'est ainsi que :

— Dans les cystolithes globuleux, le rouge de ruthénium colore fortement les stries radiales, bien visibles dans le *Ficus sycomorus* et le *Parietaria officinalis*.

— La trame des cystolithes de *Pilea cadieri* se colore peu par le rouge de ruthénium et le bleu coton, mais très fortement par le rouge Congo. Elle est donc surtout cellulosique. Cependant, la membrane qui l'entoure parfois demeure complètement incolore.

— Dans le *Ruellia strepens*, la trame est aussi principalement cellulosique, en particulier dans les cystolithes des racines. Ces derniers paraissent également plus callosiques que les cystolithes des organes aériens, car ils sont fortement colorés par le bleu coton.

— Dans les dépôts calcaires en amas et les cystolithes des Algues, la trame, très ténue, est toujours faiblement colorée par les trois réactifs.

Notons enfin que, dans tous les cas, les réactions xanthoprotéique et du Biuret, spécifiques des protides, ne donnent aucun résultat.

De même, le Soudan III ne donne pas la coloration rouge des lipides

de la cutine, et la phloroglucine chlorhydrique ne permet pas de déceler de la lignine.

b) *Microincinérations*.

— *Cystolithes globuleux* :

Des granulations réfringentes, résistant aux acides, se retrouvent sur les microincinérations de cystolithes décalcifiés du *Ficus sycomorus* et du *Broussonetia papyrifera* (fig. 28). Ces granulations sont surtout abondantes aux abords du pédicelle mais n'ont pas pu être décelées chez le *Parietaria*

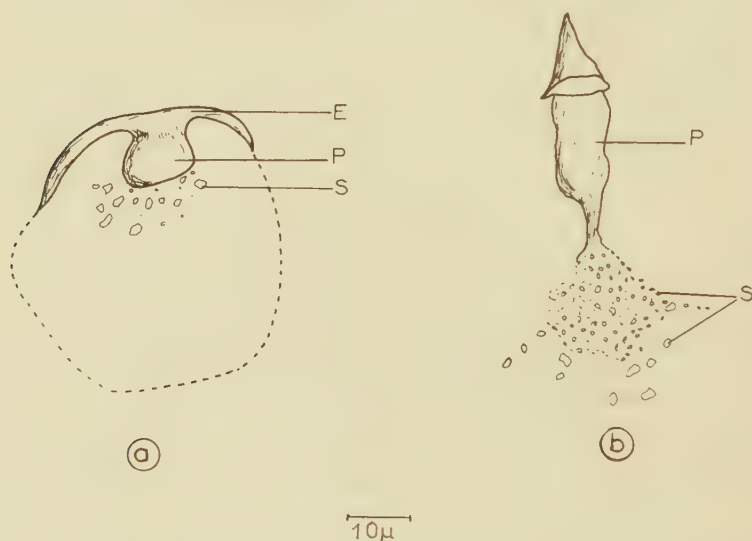


Fig. 28. — Microincinération après décalcification des cystolithes.

a) Cystolithe du *Broussonetia papyrifera* (Moracée).

b) Cystolithe du *Ficus sycomorus* (Moracée).

P = pédicelle ; S = particules silicatées de la trame ; E = épaissement pilifère.

officinalis. Elles ne proviennent certainement pas du voile silicaté, enlevé par la décalcification volontairement brutale, mais correspondent à des incrustations silicatées de la trame.

— *Cystolithes fusiformes* :

La figure 26 e montre également de nombreuses granulations autour d'un pédicelle du *Ruellia strepens*. Dans le *Pilea cadieri*, nous n'avons trouvé aucun résidu de la trame après microincinération de cystolithes décalcifiés, mais la membrane externe demeure sans aucune déformation.

— *Cystolithes des Algues* :

Nous n'avons jamais trouvé de résidu de la trame des cystolithes du *Peyssonnelia rubra*.

— *Dépôts calcaires en amas* :

Des incrustations se retrouvent également dans la trame des cystolithes du *Cerintho major* dont la partie externe est également silicatée (fig. 26 f).

III. — DISCUSSION

Cette étude qui, *a priori*, semblait bien peu intéressante, puisque la plupart des auteurs qui avaient observé les cystolithes avaient étudié également leur constitution chimique, nous a permis cependant, grâce à l'emploi de plusieurs procédés physiques (rayons X, spectrographie d'émission, spectrographie infra-rouge), d'approfondir les connaissances que nous avions déjà à leur sujet et de généraliser les résultats de HILTZ sur le *Ficus elastica* (1951).

Tous les cystolithes étudiés sont imprégnés de carbonate de calcium amorphe, sauf ceux du *Peyssonnelia rubra* qui sont incrustés de CaCO_3 cristallisé sous forme d'aragonite. Rappelons que les membranes de cette Algue calcaire sont, elles aussi, imprégnées d'aragonite. Comment expliquer que beaucoup d'auteurs qui nous ont précédée ont considéré que le calcaire des cystolithes était cristallisé ? A ceci, on peut donner diverses explications :

— Tout d'abord, la trame sur laquelle se dépose le calcaire amorphe est pecto-cellulosique. La biréfringence de la cellulose apparaît très souvent à travers le calcaire. Elle est surtout visible dans les cystolithes allongés. Ceci provient peut-être de ce que la couche calcaire de ces derniers est moins épaisse que dans les cystolithes globuleux, mais surtout de ce que la proportion de cellulose de leur trame est très forte. C'est pourquoi, KNY (1874), RICHTER (1877) et CHAREYRE (1884) trouvent que cette biréfringence demeure après décalcification. CHAREYRE, cependant, prétend qu'elle est moins forte à ce moment et conclut que les cystolithes allongés sont en calcaire cristallisé et les cystolithes globuleux en calcaire amorphe.

— D'autres chercheurs, nous l'avons vu, pensent que le carbonate de calcium est toujours cristallisé. En effet, aucun ne semble avoir pris de précautions spéciales pour faire les observations en lumière polarisée. Or, le carbonate amorphe est une substance peu stable. HILTZ a signalé l'action de l'eau sur une poudre de cystolithes de *Ficus elastica* (1951). Dans nos expériences, si les cystolithes recueillis par grattage sont laissés à

l'air libre sans précaution, beaucoup d'entre eux acquièrent une biréfringence qui indique que le calcaire s'est cristallisé. Aussi faut-il toujours les garder à l'abri de l'humidité dans un dessiccateur.

— De plus, le comportement optique est lié à l'intégrité des cellules. HILTZ, en provoquant des lésions par coupure, dans les feuilles du *Ficus elastica*, a indiqué que les cellules proches de ces lésions ont des cystolithes biréfringents qui, ensuite, se décalcifient. Le cytoplasme doit donc avoir un rôle dans le maintien de l'état amorphe des cystolithes et sa désintégration provoque un retour plus ou moins rapide à l'état stable calcitique du calcaire.

Ces trois faits réunis permettent d'expliquer la raison pour laquelle la plupart des auteurs ont conclu à la présence de calcaire cristallisé, au moins chez les Acanthacées.

On sait que dans le sol, le calcaire amorphe n'existe pas. Seuls les Etres vivants, Animaux et Végétaux, peuvent l'accumuler sous cet état : état très instable ainsi que nous venons de l'indiquer. Chez les Animaux, PRENANT considère que le calcaire est stabilisé sous forme amorphe grâce au phosphore qui l'accompagne toujours (1927 *a* et *b*, 1930, 1937). Cette explication ne peut pas être appliquée aux Végétaux puisque le phosphore est totalement absent des cystolithes, ainsi qu'on a pu le démontrer par la concordance des résultats des trois spectres d'émission des *Pilea cadieri*, *Parietaria officinalis* et *Ficus elastica*. Par contre, la silice est, elle, toujours présente et en quantité relativement importante. C'est pourquoi HILTZ et POBEGUIN (1949), dans leur étude sur le *Ficus elastica*, pensent que le silicium, dont les propriétés sont voisines de celles du phosphore, pourrait jouer le rôle de stabilisateur dans le cas des cystolithes. Des essais de synthèse de la substance minérale des cystolithes ont amené ces chercheurs à fabriquer un silico-carbonate amorphe dont les propriétés sont les mêmes que celles des cystolithes. Aussi, pouvons-nous appliquer leur hypothèse aux deux autres cas étudiés et dire en généralisant que : les cystolithes (à l'exception de ceux du *Peyssonnelia rubra*), et les dépôts calcaires en amas, sont formés de carbonate de calcium amorphe, stabilisé par la précipitation d'un silicate, qui est vraisemblablement du silicate de calcium, étant donné l'abondance des ions Ca^{++} . A l'appui de cette hypothèse, on remarquera que, dans tous les cas observés, nous avons trouvé, après microincinération, des éléments silicatés dans les cystolithes, excepté dans ceux du *Peyssonnelia rubra* dont le calcaire est justement cristallisé. Nous pouvons donc penser que, dans ce Végétal, l'absence d'ions Si^{+++} est peut-être à l'origine de cette précipitation du carbonate sous forme d'aragonite.

Les concrétions calcaires des cystolithes se déposent sur une trame qui est rattachée à la membrane par le pédicelle. Nous avons vu que, dans l'ensemble, trame et pédicelle sont calloso-pecto-cellulosiques. Des microinci-

nérations avant et après décalcification ont permis de montrer que cette trame membranaire est incrustée de silice, sauf dans le *Peyssonnelia*. La silice forme aussi un bourrelet plus ou moins épais, limitant la concrétion calcaire de certains cystolithes adultes appartenant au type fusiforme. Le pédicelle est imprégné de cette même substance. Elle est en quantité abondante dans les cystolithes globuleux : *Broussonetia*, *Ficus*, et son aspect réfringent indique que l'ion Si --- se trouve ici sous forme de silice pure et non de silicate. Par contre, elle est à peu près absente du pédicelle des cystolithes fusiformes.

Signalons que les cystolithes de la moelle du *Ruellia picta* se décalcifient, et que leur trame deviendrait ligneuse (RICHTER 1877). Nous n'avons rien observé de semblable dans les *Ruellia* observés, si ce n'est que les cystolithes des racines, toujours moins évolués que ceux des tiges, ont une trame fortement callosique. Certains auteurs ont admis aussi qu'il existe des cystolithes uniquement siliceux. KOHL donne comme exemple le *Ficus sycomorus* dans les Moracées et les cystolithes des Combrétacées (1889). Les cystolithes du *Ficus sycomorus* sont toujours calcifiés, mais le calcaire disparaît facilement lorsque les feuilles sont en inanition. Il ne reste alors que la trame et le pédicelle fortement siliceux. De plus, les cystolithes, nous l'avons vu, ne sont pas tous au même stade d'évolution dans une feuille donnée. Ce sont, sans doute, les pédicelles siliceux des cystolithes décalcifiés ou des cystolithes jeunes, encore dépourvus de trame, qui sont cause de la confusion.

De même, dans les Combrétacées, nous n'avons pas pu trouver de tels cystolithes, mais des poils dont les épaississements internes siliceux ne sont en rien comparables à ces formations. Le développement de ces poils et leur évolution ont été étudiés (PIREYRE 1953 a).

D'autres éléments accompagnent en quantité moindre la silice et le calcaire amorphe des cystolithes. Mentionnons Mg, qui est en quantité plus importante que les autres, Al et Sr, puis Ti, Fe, Cu, Pb, Mn, Sn, qui n'existent qu'à l'état de traces. Il est vraisemblable que la présence de ces éléments résulte de la possibilité que possèdent les plantes à cystolithes de fixer les impuretés sur ces concrétions. Nous verrons du reste, plus loin, que les plantes cultivées sur des milieux renfermant du strontium fixent cet élément sur leurs cystolithes.

TROISIEME PARTIE

EXPOSÉ
DES RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES

CHAPITRE PREMIER

RECHERCHES PRELIMINAIRES

I. — INFLUENCE DE LA LUMIERE SUR LA CALCIFICATION DES CYSTOLITHES

CHAREYRE (1889) et FREISLEBEN (1933) signalent que des graines ensemencées sur de la terre ordinaire, mais germant à l'obscurité, donnent des semis pourvus de rudiments cystolithiques sans carbonate de chaux. Il est donc normal de penser qu'un temps minimum d'éclairement journalier est nécessaire pour assurer une calcification des cystolithes. C'est ce que nous avons voulu préciser au cours d'essais préliminaires destinés à déterminer surtout les conditions techniques favorables pour mener à bien les expériences entreprises sur la physiologie de ces formations. Négliger cette recherche, en effet, pouvait conduire à expérimenter avec des périodes lumineuses trop courtes pour assurer une calcification normale des cystolithes, ce qui n'aurait pas manqué de fausser les résultats.

A cet effet, des graines de Pariétaires ont été ensemencées directement sur du milieu de Knop dilué et exposées à des éclairages journaliers de 1, 3, 5, 7, 9 et 16 heures. L'examen des cystolithes a été pratiqué sur les cotylédons. Chez les Pariétaires, en effet, comme chez tous les genres observés jusqu'à présent, les cotylédons foliacés en renferment de bien calcifiés.

Les observations ont été faites deux, trois et quatre semaines après l'ensemencement. A seule fin d'avoir un terme de comparaison entre les Urticacées et les Acanthacées, les mêmes expériences ont été poursuivies parallèlement sur le *Ruellia strepens*. Rappelons que ce dernier matériel possède des cystolithes aussi bien dans ses organes aériens que souterrains, et qu'il est donc intéressant d'observer son comportement vis-à-vis de la lumière.

Les résultats obtenus montrent que :

1°) La durée journalière d'éclairement n'intervient pas sur la vitesse de germination des graines expérimentées.

2°) Les graines du *Parietaria officinalis* germent plus vite que celles du *Ruellia strepens*. La germination, en effet, débute 4 à 5 jours après l'ensemencement pour les premières et au bout de 7 à 8 jours pour les secondes. Mais dans chacun des cas, répétons-le, la germination a commencé en même temps quelle que soit la durée journalière d'éclairement.

3°) Des observations faites 15 jours après l'ensemencement montrent que :

a. Les cotylédons de Pariétaire ou de *Ruellia* éclairés 1 heure chaque jour ne présentent aucun cystolithe calcifié.

b. Les germinations de *Ruellia* recevant 3 heures de lumière journalière présentent, dans leurs cotylédons, des cystolithes légèrement calcifiés. Les cystolithes de l'axe hypocotylé sont plus volumineux que ceux des cotylédons et leur degré de calcification est également plus avancé. Pour cette même durée d'éclairement journalier, ceux des cotylédons de Pariétaire, au contraire, sont réduits à l'état de pédicelles et n'ont aucune trace de carbonate de calcium.

c. Dans les autres expériences, la calcification des cystolithes de *Ruellia* est d'autant plus forte que la durée d'éclairement est elle-même plus longue.

d. Les premiers signes de calcification des cystolithes de Pariétaire n'apparaissent que dans les plants éclairés 7 heures par jour.

4°) De nouvelles observations faites trois semaines après le début des expériences montrent que :

a. Les germinations éclairées 1 heure par jour, qu'elles appartiennent au genre *Ruellia* ou au genre *Parietaria*, sont très chlorotiques, et un certain nombre d'entre elles sont mortes sans que l'on ait pu déceler de cystolithes calcifiés.

b. Les plantules de Pariétaire et de *Ruellia* éclairées 3 et 5 heures par jour sont toutes très chlorotiques et aucune feuille ne s'est développée à partir des bourgeons terminaux. Celles de Pariétaire ne possèdent toujours que des cystolithes réduits à leur pédicelle. On voit, cependant, apparaître un rudiment de trame non encore calcifiée dans les Pariétaires éclairées 5 heures par jour.

Dans les plantules de *Ruellia*, les cystolithes, déjà légèrement calcifiés lors des observations précédentes, ont continué à emmagasiner du carbonate de calcium.

c. Pour 7 heures d'éclairage et au-delà, les cystolithes de Pariétaire et de *Ruellia* ont continué à se calcifier et atteignent des volumes considérables dans les plants recevant 16 heures de lumière par 24 heures.

5°) Les germinations éclairées une heure par jour sont toutes mortes entre trois et quatre semaines après l'ensemencement.

Dans le cas des Pariétaires dont la durée d'éclairement journalier est de 3 et 5 heures, les observations faites quatre semaines après l'ensemencement, c'est-à-dire juste avant la chute des cotylédons, ne permettent toujours pas d'observer des cystolithes calcifiés.

A titre d'exemple, nous avons représenté sur la figure 29 les différents stades d'évolution des cystolithes dans le cas du *Parietaria officinalis*.

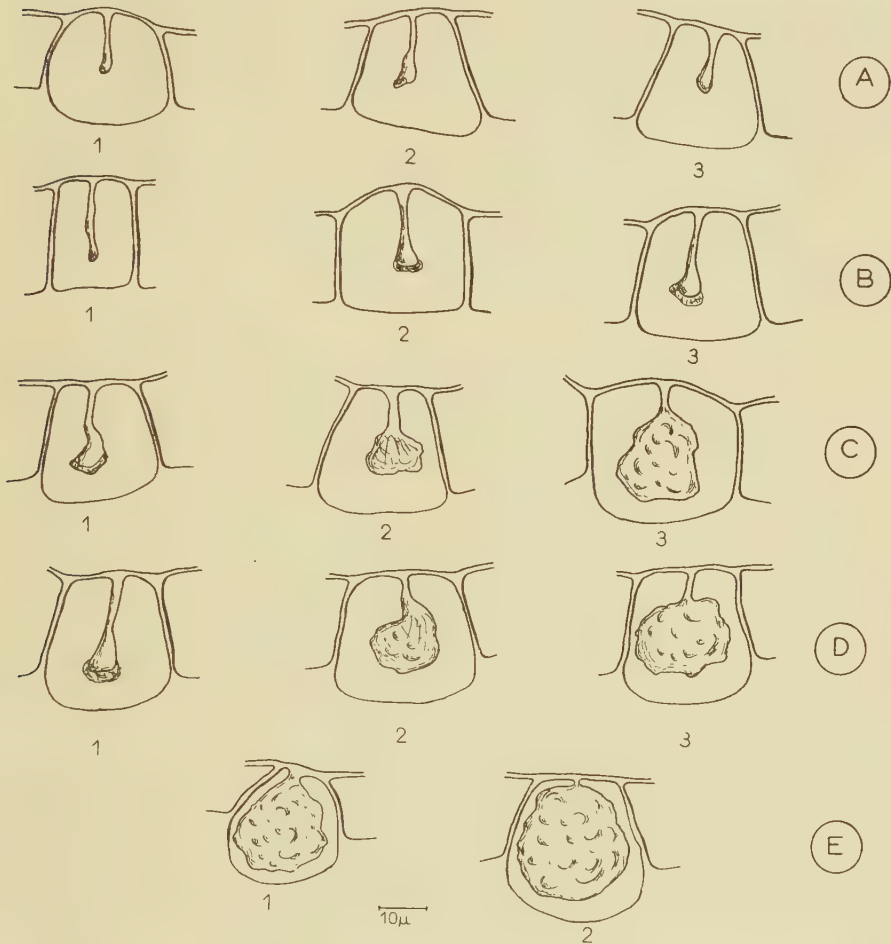


Fig. 29. — Divers états de la calcification des cystolithes de *Parietaria officinalis* suivant la durée journalière d'éclairement.

A : 3 heures d'éclairement journalier ; B : 5 heures ; C : 7 heures ; D : 9 heures ; E : 16 heures.

Observations faites : 1 : au bout de 2 semaines ; 2 : de 3 semaines ; 3 : de 4 semaines.

En résumé, on peut affirmer que :

— La lumière est indispensable à la calcification des cystolithes.

— Les plantes à cystolithes n'ont pas toujours besoin de la même quantité de lumière pour calcifier ces derniers. Ainsi, dans le cadre de nos expériences, pour le *Ruellia strepens*, un éclairage journalier très court (3 h) est suffisant pour observer les premiers dépôts de carbonate de calcium, tandis que pour la Pariétaire il faut environ 7 heures de lumière par jour.

Les expériences de physiologie entreprises sur les cystolithes ne concerneront que la Pariétaire. Comme on vient de le montrer, il sera donc utile :

1°) D'éclairer les plantules au moins 7 heures par jour.

2°) D'obtenir une durée journalière de la phase lumineuse égale dans toutes les expériences afin de pouvoir les comparer entre elles. D'où les conditions d'expérience précitées p. 122.

II. — ETUDE DE LA CROISSANCE ET DES DIFFÉRENTES FORMES DE CALCIUM AU COURS DE LA VIE DU *PARIETARIA OFFICINALIS*

Avant d'entreprendre des expériences physiologiques sur le *Parietaria officinatis*, il nous a paru intéressant d'étudier le mode de croissance de ce végétal dans nos conditions d'expérience ainsi que les variations des différentes formes de calcium au cours de son existence.

Dans une première expérience les calculs numériques ont été faits sur des plants pris 2, 3, 4 et 7 mois après le repiquage. Puis, deux autres expériences successives ont été entreprises en pesant les plants et en dosant le calcium tous les 15 jours, les premiers calculs ayant eu lieu quinze jours après le repiquage (1).

Une nouvelle série d'études a été refaite pour les plantes très jeunes et par conséquent peu développées (environ 10 milligrammes à 15 jours (2) et 65 milligrammes à 1 mois (2), car même en prenant un grand nombre d'individus (80 environ), les dosages portent sur un poids très faible du végétal, et les erreurs inhérentes à chacun d'eux sont de ce fait plus importantes que dans les stades ultérieurs.

(1) Cependant, dans la deuxième de ces expériences et à partir de quatre mois, les études n'ont été faites que tous les mois, les autres plants ayant été sacrifiés pour étudier l'influence de la chute des feuilles sur les différentes formes de calcium.

(2) Age des plants après le repiquage.

A. — Etude de la croissance des Pariétaires

1) OBSERVATIONS MORPHOLOGIQUES

Les Pariétaires poussent normalement jusqu'à 3 mois, tous les pieds repiqués (20 par jardinière) reprenant et se développant en une plante qui présente toujours quelques ramifications (Planche VIII A). A partir de 3 mois, les feuilles les plus anciennes commencent à tomber. Au niveau des cicatrices foliaires se développent alors des ramifications qui prendront de plus en plus d'importance : la tige ne s'allongeant plus beaucoup, le végétal aura tendance à s'épaissir. Mais, en même temps que s'opèrent ces phénomènes, on constate la mort des plants les moins vigoureux, de telle sorte que, si jusqu'à 3 mois le nombre de ceux-ci est de 20 par jardinière,

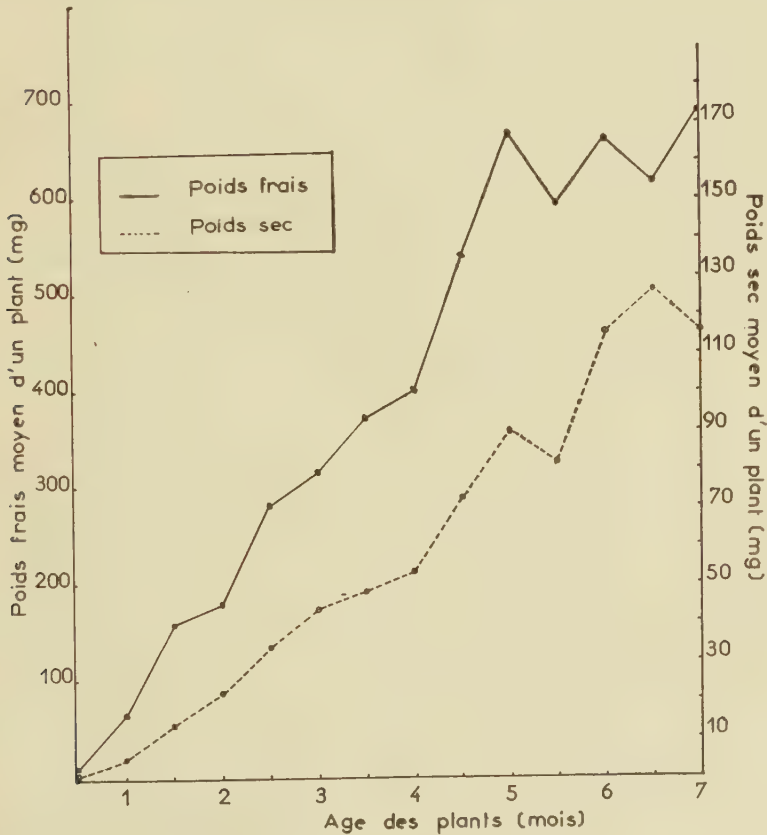


Fig. 30. — Influence de l'âge des Pariétaires sur les poids sec et frais des tissus.

TABLEAU XXV

Variation du poids et de la teneur en eau
des tissus en fonction de l'âge de la Pariétaire

P_s = Poids sec moyen d'un plant (en mg)
 P_f = Poids frais moyen d'un plant (en mg)
 H_2O = Teneur en eau des tissus (en % du poids frais)

Grandeur considérée	Age des plants (en mois)													
	1	1 1/2	2	2 1/2	3	3 1/2	4	4 1/2	5	5 1/2	6	6 1/2	7	
I			21,5		42,9		54,1						110,7	
II	0,9	4,9	15,9	22,4	42,6	47,9	50,1	72,5	100,0	81,0	100,1	126,2	120,7	
III	0,9	4,8	13,2	21,6	33,2	43,5	48,2	54,8	80,6		131,2			
IV	1,0	4,9	11,6											
Moyenne	0,9	4,9	13,5	21,5	33,4	43,0	48,0	53,0	72,5	90,3	81,0	115,6	115,7	
I			167,1		306,8		402,7						741,5	
II	9,8	65,9	177,8	279,7	317,7	377,7	388,0	540,6	704,6	594,0	569,7	617,5	645,1	
III	9,5	66,7	167,1	283,3	320,5	363,9	409,1		629,4		756,5			
IV	10,8	61,6	129,6											
Moyenne	10,0	64,7	158,1	281,5	315,0	370,8	399,9	540,6	667,0	594,0	663,1	617,5	693,3	
H ₂ O														
Moyenne des séries	90,4	92,3	91,3	87,7	88,1	86,6	87,0	86,7	86,5	86,4	86,3	82,5	79,5	83,1

il tombe ensuite à 16, 15, puis 12 lorsque les cultures atteignent le 7^e mois. Ce comportement peut provenir de plusieurs causes :

— Les plants repiqués, au départ, sont trop rapprochés, et à 3 mois le volume des jardinières n'est plus assez grand pour assurer un développement normal de tous les plants.

— Le milieu peut devenir insuffisamment riche en certains ions, étant donnée la taille croissante des Pariétaires.

— Les Pariétaires passent à 3 mois par une période critique qui les rend plus vulnérables, les pieds les mieux développés étant seuls capables de subsister.

2) RÉSULTATS NUMÉRIQUES

Le tableau XXV et la figure 30 montrent que les Pariétaires ne cessent de croître au cours des expériences, et la chute des feuilles à partir de 3 mois ne se répercute pas sensiblement sur le poids des végétaux expérimentés. La croissance jusqu'à 4 mois est assez homogène dans tous les cas examinés, mais varie ensuite de façon appréciable d'une expérience à l'autre.

De plus, le pourcentage d'eau diminue avec l'âge des plants considérés. Les très faibles pourcentages, relevés dans les derniers mois des expériences, montrent que les plants sont dans des conditions défavorables à leur bon développement. C'est sans doute la raison pour laquelle les variations de poids, d'une expérience à l'autre, sont assez élevées.

B. — Variations des différentes formes de calcium

1) TAUX DE CALCIUM

Les calculs ont été rapportés à 100 grammes de substance sèche et sont mentionnés sur le tableau XXVI et la figure 31.

— *Calcium soluble* :

Il augmente entre 15 jours et 1 mois, puis diminue rapidement jusqu'à 3 mois et atteint un équilibre qui se maintient à peu près jusqu'à la fin des expériences.

— *Calcium des carbonates* :

Le calcium des cystolithes, indosable dans les jeunes plants de 15 jours, augmente ensuite très fortement jusqu'à 2 mois 1/2 et 3 mois. Puis il se produit une forte chute du taux du carbonate dans les plants de 3 mois 1/2 et 4 mois. Le carbonate reste ensuite à peu près constant dans les plants plus âgés.

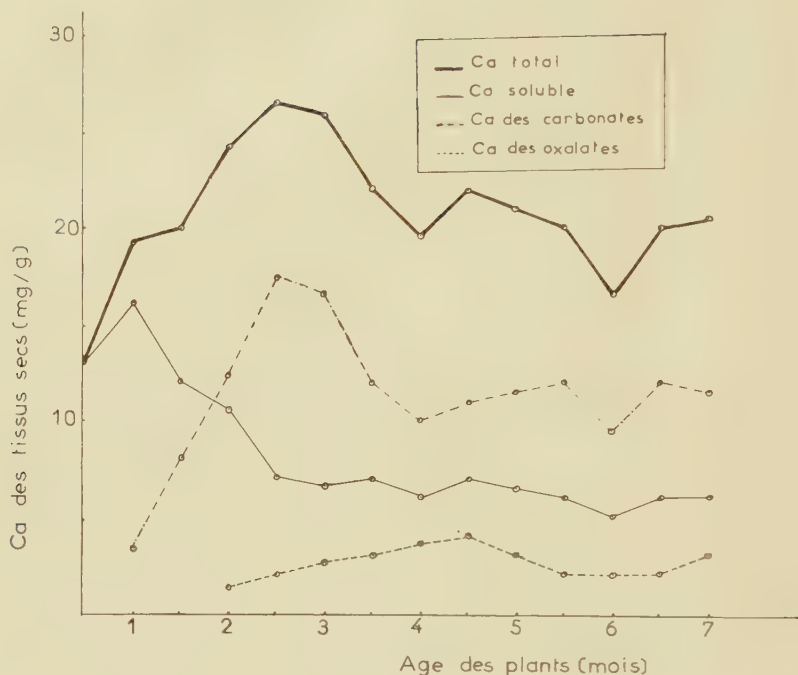


Fig. 31. — Influence de l'âge des Pariétaires sur le taux de calcium des tissus secs.

On voit que le taux des cystolithes augmente au début des expériences puis subit une forte chute qui correspond à des troubles métaboliques observés dans les plants de 3 mois et plus.

— *Calcium des oxalates* :

Il est toujours peu abondant et ne commence à être dosable qu'à partir de 2 mois. Il augmente avec l'âge des Pariétaires, le taux maximum étant atteint aux environs de 4 mois.

— *Calcium total* :

En additionnant les résultats obtenus pour les différentes formes de calcium, on voit que les variations du taux de calcium total proviennent surtout des variations du taux des carbonates. Ainsi, après une augmentation jusqu'à 2 mois 1/2 ou 3 mois, il diminue par suite de la chute de ce dernier. Il se maintient ensuite, aux environs de 2 grammes pour 100 grammes de substance sèche, jusqu'à la fin des expériences.

TABLEAU XXVI

Variation du taux des différentes formes de calcium
en fonction de l'âge des Pariétaires
(en milligrammes par gramme de substance sèche)

Grandeur considérée	Age des plants (en mois)												
	1	1½	2	2½	3	3½	4	4½	5	5½	6	6½	7
Ca sol.	I												
	II	10	11	7	7	7	6	7		6	5	6	6
	III	14	11	7	6	7	6		6		5		
	IV	15	13						7				
	Moyenne	13,0	12,0	10,6	7,0	6,6	7,0	7	6,5	6	5,0	6	6,0
Ca des carb. III	I												
	II	Ind.	4	11		13	12						12
	III	Ind.	3	13	16	20	9	11	13	12	10	12	11
	IV	Ind.	3	13	19	17	9		10		9		
	Moyenne	Ind.	3,3	12,3	17,5	16,6	12,0	11	11,5	12	9,5	12	11,5
Ca des ox.	I												
	II	Ind.	Ind.	1		3	4						3
	III	Ind.	Ind.	2	2	2	4	4	3	2	2	2	3
	IV	Ind.	Ind.			3	3		3				
	Moyenne	Ind.	Ind.	1,3	2,0	2,6	3,0	4	3,0	2	2,0	2	3,0
Ca total (Moyenne des séries)	13,0	19,3	20,0	24,2	26,5	25,8	21,0	22	21,0	20	16,5	20	20,5

Notons que les calculs faits par rapport au poids frais donnent des résultats semblables, excepté pour le calcium soluble. En effet, la forte teneur en eau des tissus jeunes masque l'augmentation du taux de Ca soluble entre 15 jours et 1 mois, et la chute jusqu'à 3 mois est fortement atténuée.

2) MASSE DE CALCIUM ABSORBÉE

On a calculé la masse de calcium absorbée par 100 plants de Pariétaires. Les résultats sont mentionnés sur la figure 32 et le tableau XXVII.

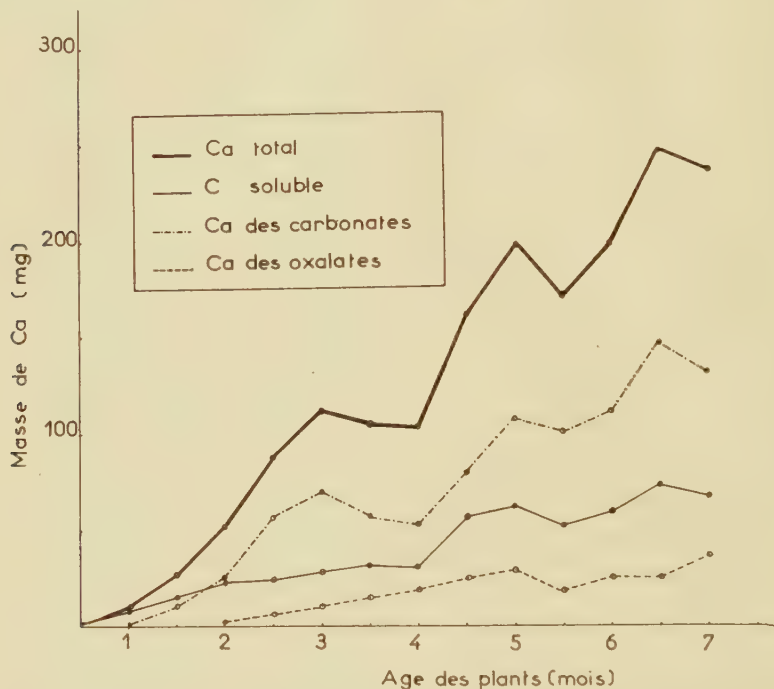


Fig. 32. — Influence de l'âge des Pariétaires sur la masse de calcium absorbée par 100 plants.

La courbe montre que l'absorption est stoppée entre trois et quatre mois, d'où une diminution de la masse des carbonates.

— Calcium soluble :

Il ne cesse d'augmenter durant la vie des Pariétaires, surtout pendant les cinq premiers mois.

— Calcium des carbonates :

Il augmente jusqu'à 3 mois et diminue fortement entre 3 et 4 mois. On a ensuite une nouvelle augmentation des carbonates. Mais on se sou-

TABLEAU XXVII

Variation de la masse de calcium absorbée
en fonction de l'âge des Pariétaires
(en mg pour 100 plants)

Grandeur considérée	Age des plants (en mois)											
	1	1½	2	2½	3	3½	4	4½	5	5½	6	6½
I			25,0		30,7		33,3					
II	0,9	18,5	24,2	25,0	28,4	32,0	27,4	57,5	63,6	52,5	50,9	73,8
III	1,2	6,8	21,0	25,0	28,2	33,6	34,2		62,6		69,4	68,3
IV	1,5	7,6	15,5									
Moyenne	1,2	7,8	23,4	25,0	29,1	32,8	31,6	57,5	63,1	52,5	60,1	73,8
I			23,2		57,1		65,3					136,3
II	Ind.	11,5	28,9	53,0	87,3	53,0	45,2	80,0	130,9	100,0	102,7	129,1
III	Ind.	11,5	27,3	62,0	74,1	62,1	50,5		84,0		121,1	
IV	Ind.	10,0										
Moyenne	Ind.	11,0	26,4	57,5	72,5	57,5	53,6	80,0	107,4	100,0	111,9	132,7
I			3,2		12,8		21,3					40,0
II	Ind.	Ind.	3,1	7,0	9,4	15,0	18,4	26,2	30,9	19,3	21,8	26,9
III	Ind.	Ind.	3,5	7,5	11,7	15,7	19,4		28,0		30,5	
IV	Ind.	Ind.										
Moyenne	Ind.	Ind.	3,2	7,2	11,3	15,3	19,7	26,2	29,4	19,3	26,1	26,9
Ca total (Moyenne des séries)	1,2	9,5	27,5	53,0	89,7	112,9	105,6	163,7	199,9	171,8	198,1	248,3
												237,4

vient qu'après 3 mois le nombre des plants par cuve n'est plus de 19 ou 20 comme précédemment, mais de 16-15 et même parfois 12, les conditions étant, sans nul doute, défavorables à leur bon développement. Aussi, peut-on penser que la disparition d'un certain nombre de cultures permet aux plants restants d'une même jardinière de retrouver un équilibre, d'où une nouvelle augmentation des carbonates.

— *Calcium des oxalates* :

Comme le calcium soluble, il ne cesse d'augmenter durant la vie des Pariétaires.

— *Calcium total* :

Les variations de la masse du calcium des carbonates se retrouvent à propos du calcium total. Après une augmentation jusqu'à 3 mois, il y a donc une légère diminution de la masse totale absorbée entre 3 et 4 mois, puis une nouvelle remontée jusqu'à la fin des expériences.

C. — Influence de la chute des feuilles
sur les variations des différentes formes de calcium observées

La chute des feuilles, on s'en souvient, commence aux environs de 3 mois. Or, c'est à partir de 2 mois 1/2 ou 3 mois que se manifestent les premières diminutions du taux et de la masse absorbée du calcium des cystolithes. Si l'on se souvient, de plus, que les cystolithes des Pariétaires sont localisés dans les feuilles de ce Végétal, une hypothèse vient à l'esprit. Cette diminution du calcium des cystolithes ne provient-elle pas de la chute des feuilles qui, en tombant, entraînent avec elles une assez forte quantité de carbonate de calcium non dosée, par conséquent, dans les expériences suivantes ? Pour essayer de vérifier le bien-fondé de cette hypothèse, nous avons opéré de la façon suivante :

Dans la troisième expérience, et à partir de 3 mois, nous avons placé, sous chaque jardinière, une cuvette de papier afin de recueillir les feuilles tombées. Ainsi était-il possible, dans les dosages suivants, d'évaluer les différentes formes de calcium contenues, d'une part dans l'ensemble des plants, d'autre part dans les feuilles tombées, et enfin dans l'ensemble des deux.

1) TAUX DE CALCIUM

Les résultats obtenus sont mentionnés sur le tableau XXVIII et la figure 33 A.

— *Calcium soluble* :

Le fait de tenir compte des feuilles tombées au moment des dosages élève la valeur trouvée pour le taux moyen du calcium soluble.

TABLEAU XXVIII

Influence de la chute des feuilles
sur le taux des différentes formes de calcium
(en mg par gramme de substance sèche)

P = Résultats des dosages faits sur les plants seuls.

P + F = Résultats des dosages faits sur les plants plus les feuilles tombées.

Grandeur considérée	Age des plants (en mois)				
	3	3½	4	5	6
Ca soluble	P 6	P 7	P 6	P 7	P 5
	P+F 8	P+F 8	P+F 8	P+F 9	P+F 7
Ca des carb.	P 17	P 13	P 9	P 10	P 9
	P+F 15	P+F 11	P+F 11	P+F 13	P+F 11
Ca des oxal.	P 3	P 3	P 3	P 3	P 2
	P+F 3	P+F 3	P+F 3	P+F 3	P+F 2
Ca total	P 26	P 23	P 18	P 20	P 16
	P+F 26	P+F 26	P+F 22	P+F 25	P+F 20

— Calcium des carbonates :

Si l'on néglige les feuilles tombées, le taux du calcium des cystolithes diminue fortement dans les plants de 3 mois 1/2 comme nous l'avions vu précédemment. Cette diminution existe encore, mais elle est beaucoup moins accusée, si l'on ajoute aux quantités trouvées le calcium des carbonates contenu dans les feuilles tombées.

Nous pouvons donc affirmer que les feuilles qui tombent au cours de la vie des Pariétaires constituent une des causes de la chute du taux des carbonates à partir de 3 mois. De plus, des observations microscopiques montrent que les cystolithes des feuilles tombées sont en partie décalcifiés, et ont ainsi contribué à augmenter le taux du calcium soluble. Et, si l'on pouvait connaître la proportion de calcium soluble correspondant à cette décalcification, il serait possible de diminuer, et peut-être même (en tenant compte de la variabilité du matériel et du fait qu'un certain nombre de feuilles peuvent ne pas avoir été retrouvées ou s'être détériorées) de supprimer la chute du taux des carbonates entre 3 mois et 3 mois 1/2. Cependant, les mêmes dosages faits à 4 mois montrent que la présence des feuilles tombées atténue, mais ne supprime pas, la forte chute du calcium des carbonates. Et même en supposant que la plus grande partie du calcium solu-

ble de ces feuilles provient des cystolithes décalcifiés, il est impossible de retrouver le taux initial des carbonates. Il en est de même pour les dosages faits à 5 et 6 mois.

— *Calcium des oxalates* :

La quantité d'oxalates de calcium des feuilles tombées est beaucoup trop faible pour pouvoir être dosée, aussi le fait de tenir compte de ces feuilles ne fait pas varier leur taux.

— *Calcium total* :

L'adjonction des feuilles tombées supprime la chute du taux de calcium total entre 3 mois et 3 mois 1/2, chute qui réapparaît cependant dans les dosages faits à 4 mois.

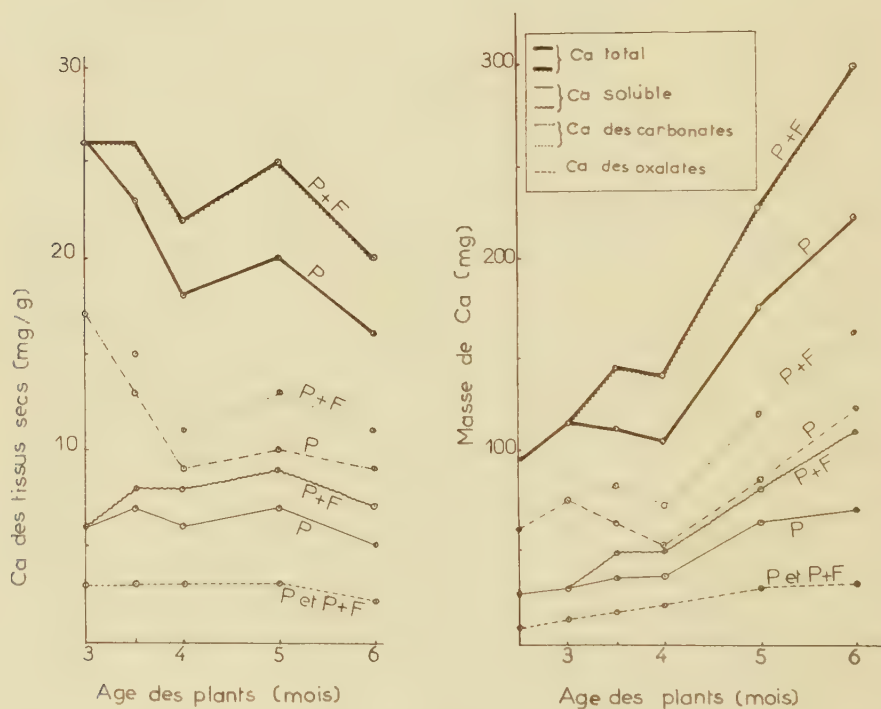


Fig. 33. — Influence de la chute des feuilles : A, sur le taux des différentes formes de calcium ; B, sur la masse de calcium absorbée.

Le fait de tenir compte des feuilles tombées au moment des dosages diminue la valeur trouvée de la chute du taux des carbonates et du calcium total entre trois et quatre mois mais ne la supprime pas. De plus, la masse de calcium total absorbée cesse malgré tout d'augmenter entre trois mois et demi et quatre mois.

P = plants seuls ; P + F = plants + feuilles tombées.

2) MASSE DE CALCIUM ABSORBÉE

Si l'on compare les résultats obtenus dans la troisième expérience avec ou sans les feuilles tombées (tableau XXIX et fig. 33 B), on voit que le fait d'ajouter les feuilles tombées au moment des dosages donne les résultats suivants :

— Le calcium soluble absorbé augmente de façon plus considérable que précédemment.

— La chute du calcium des carbonates disparaît entre 3 mois et 3 mois 1/2. Mais cette diminution réapparaît entre 3 mois 1/2 et 4 mois.

TABLEAU XXIX

Influence de la chute des feuilles sur les valeurs trouvées de la masse (en mg) des différentes formes de calcium absorbées par 100 plants de Pariétaires

P = Résultats des dosages faits sur les plants seuls.

P + F = Résultats des dosages faits sur les plants plus les feuilles tombées.

Grandeur considérée		Age des plants (en mois)					
		2½	3	3½	4	5	6
Ca soluble	P	25,0	28,2	33,6	34,2	62,6	69,4
	P+F			46,3	47,3	80,0	109,3
Ca des carb.	P	62,0	74,1	62,1	50,5	84,0	121,1
	P+F			81,5	71,5	118,6	161,1
Ca des oxal.	P	7,5	11,7	15,7	19,4	28,0	30,5
	P+F			15,7	19,4	28,0	30,5
Ca total	P	94,5	114,0	111,4	104,1	174,6	221,0
	P+F			143,5	138,2	226,6	300,9

— Le calcium des oxalates demeure fixe puisqu'il n'est pas dosable dans les feuilles tombées.

— La chute du calcium total, comme pour le calcium des cystolithes, disparaît entre 3 mois et 3 mois 1/2 pour réapparaître entre 3 mois 1/2 et 4 mois. Et même en supposant que quelques feuilles tombées n'ont pas été retrouvées, ou se sont détériorées au contact du sol humide par exemple, ces dernières seraient en quantité relativement faible et leur présence suffirait tout juste à maintenir constante la quantité de calcium total.

Il faut donc admettre qu'à un certain stade les plantes ne fixent plus d'ions Ca^{++} et surtout ne forment plus de cystolithes, vraisemblablement

parce que le milieu n'est plus favorable à leur bon développement, comme le prouve la mort d'un grand nombre de Pariétaires dans les stades suivants. On a d'ailleurs vu qu'après avoir retrouvé un équilibre les plantes recommencent à fixer du calcium et à former de nouveaux cystolithes.

Il se peut, toutefois, que ce manque de fixation du calcium entre 3 mois 1/2 et 4 mois corresponde également à un changement de métabolisme ne dépendant pas des conditions de culture utilisées. En effet, BUA-TIA, dans son ouvrage sur le calcium foliaire du Teck (1955), trouve qu'à la maturité des feuilles la capacité d'accumuler des minéraux diminue, et il explique ainsi une baisse de pourcentage du calcium au moment de la chute des feuilles.

Mais cet arrêt dans la fixation du calcium ne vient pas de ce que cet ion fait défaut dans le milieu extérieur. Ainsi, le même tableau XXIX montre qu'à 4 mois (au moment où les Pariétaires ne différencient plus de cystolithes) la quantité de calcium total, y compris le calcium des feuilles tombées, contenue dans 100 plants, est de 138,2 milligrammes, or les calculs nous ont montré que le calcium offert alors par le milieu extérieur est de 164 milligrammes.

A la lumière de ces divers résultats, il est possible d'interpréter les mouvements et la répartition du calcium dans la Pariétaire.

— Le taux du calcium soluble augmente dans les très jeunes plants, puis diminue jusqu'à atteindre une valeur minimale stable.

— Jusqu'à l'âge de 3 mois, âge où commence la chute des feuilles, le taux du Ca^{++} des carbonates, des oxalates et total, ne cesse de croître. Il est remarquable de constater que la diminution du calcium soluble s'amorce dès que le CaCO_3 commence à être dosable et que son taux dans la Pariétaire s'élève peu à peu.

L'augmentation du Ca^{++} des carbonates et des oxalates est en accord avec les travaux d'ABUTALYBOV et ceux d'OKUDA et coll. (1956) qui mentionnent que le calcium insoluble s'accumule surtout dans les vieilles feuilles.

L'augmentation du calcium total est en accord également avec les conceptions de THODAY et coll. (1932), à savoir que le taux du calcium augmente avec l'âge des végétaux.

— Entre 3 et 4 mois, le taux du calcium des cystolithes subit une diminution qui ne peut être expliquée par la seule chute des feuilles. En fait, les conditions de culture sont défavorables pour les Pariétaires qui ne retrouvent un équilibre qu'après la mort d'un certain nombre de plants dans chaque jardinière.

Ceci nous conduit à ne reconnaître comme valables que les résultats obtenus avant la chute des feuilles. En conséquence, à chaque fois que des dosages ont été nécessaires, au cours des expériences physiologiques, nous les avons faits sur des plants âgés au plus de 3 mois, afin d'être dans la partie ascendante de la courbe des carbonates.

CHAPITRE II

ETUDE DE L'ACTION DE QUELQUES IONS SUR LA CROISSANCE ET LES DIFFERENTES FORMES DE CALCIUM DU *PARIETARIA OFFICINALIS*

Nous avons étudié, outre l'action des ions calcium eux-mêmes, celles des ions magnésium et potassium afin de tenir compte des interactions qu'on sait exister entre eux. Il aurait été intéressant d'envisager l'action du strontium, un alcalino-terreux voisin du calcium ; malheureusement, les dosages complexométriques employés ne permettent pas de le différencier du calcium lui-même. Nous verrons cependant, dans un autre chapitre, que cet ion a permis d'obtenir des résultats intéressants en ce qui concerne les cystolithes.

Avant d'étudier l'action propre des éléments mentionnés, les conséquences de leur absence totale dans le milieu extérieur seront examinées.

Dans toutes les expériences entreprises, cependant, force a été d'introduire dans les milieux de culture des ions Cl^- ou Na^+ (cf. tabl. I à IV) qui n'existent pas dans le milieu témoin. Aussi nous a-t-il fallu étudier tout d'abord l'action de ces ions sur les Pariétaires.

Toutes ces recherches ont été faites sur des plants de 2 mois.

I. — ETUDE DES IONS Cl^- ET Na^+

A. — Action sur la croissance

Les ions Cl^- et Na^+ ajoutés sous forme de ClNa au milieu témoin sont sans action sur le poids sec des Pariétaires, mais provoquent une augmentation du poids frais due à l'élévation de la teneur en eau des tissus (tabl. XXX et pl. V A).

TABLEAU XXX

Influence du chlorure de sodium sur les poids sec et frais du *Parietaria officinalis* et la teneur en eau des tissus

Grandeur considérée		Concentration de ClNa en mM						
		0 témoins	1	2	4	8	16	32
Poids sec (mg)	I	23,0	21,2	27,6	23,7		20,9	23,2
	II	22,6		27,9	25,7	28,1	26,4	
	III	26,2	23,9	23,8	25,3	24,0	29,5	26,6
	Moyenne	23,9	22,5	26,4	24,9	26,0	25,6	24,9
Poids frais (mg)	I	194,7		250,4	260,1		248,7	292,6
	II	194,1		243,5	255,0	306,8	324,8	
	III	199,6	224,4	238,7	266,7	297,5	332,0	327,8
	Moyenne	196,1	215,7	244,2	260,6	302,1	301,8	315,2
Teneur en eau (en % du poids frais)	I	88,2	89,8	89,0	90,9		91,6	92,1
	II	88,3		88,5	89,9	90,8	91,9	
	III	86,8	89,3	89,5	90,5	91,9	91,1	91,9
	Moyenne	87,4	89,5	89,0	90,4	91,3	91,5	92,0

B. — Action sur les différentes formes de calcium

1) CALCIUM SOLUBLE

L'examen du tableau XXXI et de la figure 34 montre que le taux du calcium soluble augmente tout d'abord avec les concentrations croissantes du Cl^- et Na^+ . Il atteint un optimum dans les *Pariétaires* cultivées sur du Knop à 2 millimolécules gramme de ClNa, et diminue ensuite pour les milieux de culture plus concentrés.

La masse de calcium emmagasinée par 100 plants varie dans le même sens que le taux des ions Ca^{++} .

TABLEAU XXXI

Influence du chlorure de sodium sur le calcium soluble
du *Parietaria officinalis*

Ca/Sec = Taux de Ca^{++} contenu dans les tissus secs (en mg/g)

Ca pour 100 plants = Masse de Ca^{++} contenue dans 100 plants (en mg)

Grandeur considérée		Concentration de ClNa en mM						
		0 témoins	1	2	4	8	16	32
Ca/sec	I	11	13	12	10		10	12
	II	11		14	13	10	7	
	III	8	11	12	11	11	10	9
Moyenne		10,0	12,0	12,6	11,3	10,5	9,0	10,5
Ca pour 100 plants		24	26,8	30,3	28,5	27,1	23,8	26,7

2) CALCIUM DES CARBONATES (tabl. XXXII et fig. 34)

Les variations du taux et de la masse absorbée du Ca^{++} des carbonates sont les mêmes que dans le cas précédent. L'optimum, cependant, se trouve un peu déplacé et apparaît entre 1 et 2 mM NaCl.

TABLEAU XXXII

Influence du chlorure de sodium sur le carbonate de calcium
du *Parietaria officinalis*
(Mêmes notations que pour le tableau précédent)

Grandeur considérée		Concentration de ClNa en mM						
		0 témoins	1	2	4	8	16	32
Ca/sec	I	10	16	15	10		10	9
	II	10		12	11	9	9	
	III	10	14	12	11	9	9	6
Moyenne		10,0	15,0	13,0	10,6	9,0	9,3	7,5
Ca pour 100 plants		24,3	35,9	35,0	26,9	24,0	24,7	18,5

3) CALCIUM DES OXALATES

Les oxalates ne semblent pas subir de variations sensibles par addition du chlorure de sodium dans les milieux de culture (tabl. XXXIII et fig. 34).

TABLEAU XXXIII

Influence du chlorure de sodium sur l'oxalate de calcium
du *Parietaria officinalis*
(Mêmes notations que pour les tableaux précédents)

Grandeur considérée		Concentration de ClNa en mM						
		0 témoins	1	2	4	8	16	32
Ca/sec	I	1	1	2	1		1	1
	II	2		1	2	1	1	
	III	1	2	1	1	2	1	2
Moyenne		1,3	1,5	1,3	1,3	1,5	1,0	1,5
Ca pour 100 plants		3,9	3,2	4,3	3,6	4,8	3,8	3,9

TABLEAU XXXIV

Influence du chlorure de sodium sur le calcium total
du *Parietaria officinalis*
(Mêmes notations que pour les tableaux précédents)

Grandeur considérée		Concentration de ClNa en mM						
		0 témoins	1	2	4	8	16	32
Ca/sec	I	22	30	29	21		1	12
	II	23		27	26	20	17	
	III	19	27	25	23	22	20	17
Moyenne		21,3	28,5	27,0	23,3	21,0	19,3	19,5
Ca pour 100 plants		52,2	65,9	69,6	59,0	55,9	52,3	49,1

4) CALCIUM TOTAL

La valeur du taux et de la masse de calcium total est obtenue par addition des résultats précédents. Aussi les variations sont-elles les mêmes que celles du calcium soluble et des carbonates (tabl. XXXIV et fig. 34). La masse de calcium absorbée varie dans le même sens que le taux de cet ion.

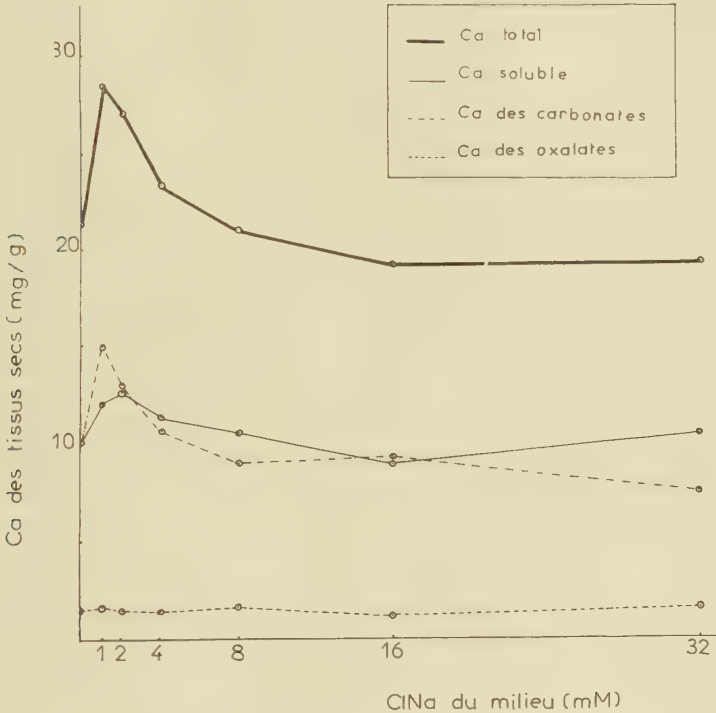


Fig. 34. — Influence du chlorure de sodium sur le taux des différentes formes de calcium.

Un maximum très marqué apparaît pour les concentrations de ClNa situées entre 1 et 2 mM, sauf pour l'oxalate de calcium qui ne subit pas de variations sensibles.

Au total, on peut dire que pour des concentrations faibles des ions Cl^- et Na^+ dans le milieu extérieur (1 et 2mI), le calcium soluble, des carbonates et total, varie dans le même sens que le poids frais des Végétaux. Il y a donc une action directe de ces éléments, ou de l'un quelconque d'entre eux, sur la perméabilité des tissus au calcium qui est augmentée. Au-dessus de 2 mI Cl^- et Na^+ , le taux du calcium varie en sens inverse de la croissance. On pour-

rait penser que les ions excédentaires n'ont pas d'action directe sur l'absorption du calcium, mais simplement, en augmentant la croissance, ils provoqueraient une diminution du taux du calcium. Cependant, si on considère la masse de calcium absorbée par 100 plants, on constate qu'elle diminue également. Ceci permet d'affirmer que les ions Cl^- et Na^+ , ajoutés en trop grosse quantité dans le milieu témoin, freinent bien l'entrée du calcium dans la Pariétaire.

II. — ETUDE DES IONS CALCIUM

A. — Carence calcique

1) ACTION SUR LA CROISSANCE

Dans les milieux sans calcium, les symptômes de carence se font sentir très tôt. Dès le repiquage les jeunes plantules se développent moins rapidement que celles des jardinières contenant du calcium (Planche VB et tabl. XXXV). Trois semaines ou un mois après le repiquage, les bourgeons commencent à se flétrir. Leurs extrémités sont bientôt nécrosées cependant que les feuilles proches de ces bourgeons perdent peu à peu leur chlorophylle et jaunissent. Les feuilles de la base des tiges demeurent, au contraire, toujours très chlorophylliennes.

Notons, cependant, que le pourcentage d'eau des plantes carencées est le même que celui des témoins.

TABLEAU XXXV

Effet de la carence calcique sur les poids sec et frais de la Pariétaire et sur la teneur en eau des tissus
(Moyennes des valeurs obtenues au cours de trois expériences portant chacune sur 20 plants)

O = Milieu sans calcium — T = Milieu témoin

Grandeur considérée	Milieu	
	O	T
Poids frais d'un plant (en mg)	79,4	189,7
Poids sec d'un plant (en mg)	9,0	20,7
Teneur en eau des tissus (en % du poids frais)	88,4	88,8

2) ACTION SUR LES DIFFÉRENTES FORMES DE CALCIUM

Calcium soluble.

Les Pariétaires développées sur milieu carencé en Ca^{++} n'ont à leur disposition que le calcium contenu dans les réserves des graines. En effet, des examens microscopiques montrent que ces dernières comprennent essentiellement des inclusions lipidiques et des grains d'aleurone formés d'un cristalloïde et d'un ou deux globoides. Or, on sait que ces globoides renferment du calcium. Celui-ci doit y être entreposé en plus ou moins grande quantité (suivant que les plantes qui ont produit les graines provenaient de terrains plus ou moins riches en cet élément), car on le retrouve parfois dans le dosage du calcium soluble des plantes carencées, mais il est en si faible proportion qu'il est souvent indosable. Sur trois dosages par exemple, seul un lot contenait 1 milligramme de calcium par gramme de substance sèche. En comparant ces résultats avec ceux du tableau XXXVII on voit que la quantité trouvée est beaucoup plus faible que celle des témoins cultivés sur du milieu de Knop dont le taux moyen est de 10,7 milligrammes par gramme de substance sèche. Ceci permet de penser toutefois que le calcium en réserve dans les graines est utilisé par la suite sous forme soluble ou liée.

Calcium des carbonates.

Dans aucun cas, il n'a été possible de détecter du carbonate de calcium, tant par les dosages que par les examens microscopiques. Notons, cependant, que les cystolithes ne font pas complètement défaut dans les plants ensemencés sur des milieux sans calcium, mais ils sont toujours à l'état de pédicelle.

Calcium des oxalates.

Ces derniers, s'il y en a, sont présents à l'état de traces, indosables par nos méthodes.

B. — Action des ions calcium

1) ACTION SUR LA CROISSANCE

Une très petite quantité de calcium dans les milieux de culture suffit à supprimer les symptômes de carence tels que les nécroses des bourgeons. C'est ainsi que 0,5 mI/l Ca^{++} permet d'obtenir des plants d'aspect normal et bien développés. Dans les milieux suivants, la taille des Pariétaires est fonction de la concentration du milieu nutritif en calcium, l'optimum d'élongation est situé aux environs de 8 mI Ca^{++} (Planche VB et

tabl. XXXVI). Pour des concentrations plus fortes, les plants, un peu moins développés, deviennent chlorotiques. Ceci est surtout visible pour les concentrations de 32 ml Ca^{++} . Le tableau XXXVI montre également que le calcium n'a pas d'action visible sur la teneur en eau des tissus.

TABLEAU XXXVI

Influence des ions calcium sur les poids sec et frais des Pariétaires et la teneur en eau de leurs tissus

Grandeur considérée		Concentration de Ca^{++} en ml						
		0,5	1	2,1 témoins	4	8	16	32
Poids sec (mg)	I		20,1	21,2	27,2	31,0	26,6	15,5
	II		16,0	19,2	20,3	25,5	23,2	23,0
	III	20,1	21,1	21,8	23,5	29,3	26,2	
	Moyenne	20,1	19,2	20,7	23,6	28,6	25,3	19,2
Poids frais (mg)	I		197,5	184,7	218,8	243,8	212,2	162,8
	II		170,5	166,1	208,3	210,6	207,2	247,8
	III	210,9	213,0	218,5	226,3	271,3	210,3	
	Moyenne	210,9	193,6	189,7	217,8	241,9	209,9	205,3
Teneur en eau (en % du poids frais)	I		89,6	88,5	87,6	87,3	87,4	90,5
	II		90,6	88,4	90,3	87,9	88,8	90,8
	III	90,5	90,1	89,4	89,6	89,2	87,6	
	Moyenne	90,5	90,1	88,8	89,2	88,1	87,9	90,6

2) ACTION SUR LES DIFFÉRENTES FORMES DE CALCIUM

Calcium soluble.

Les résultats des dosages sont indiqués dans le tableau XXXVII et la figure 35. Ils montrent que, dans toutes les expériences, le calcium soluble augmente en même temps que la concentration extérieure en ions Ca^{++} sans qu'il y ait apparition d'un seuil. Néanmoins, l'augmentation du

taux de calcium soluble est égale à l'augmentation de la concentration externe de cet élément au début des expériences, mais devient ensuite plus faible. On voit, en effet, sur le même tableau XXXVII que le rapport

TABLEAU XXXVII

Influence des ions Ca^{++} sur le calcium soluble
du *Parietaria officinalis*

Grandeur considérée		Concentration de Ca^{++} en ml						
		0,5	1	2,1 témoins	4	8	16	32
Taux de Ca^{++} contenu dans les tissus secs (mg/g)	I		6	10	15	25	22	35
	II		5	10	13	21	28	41
	III		5	13	18	20	27	39
	IV	3	6	10	16	18	24	
Moyenne		3	5,5	10,7	15,5	21,0	25,2	38,3
Masse de Ca^{++} dans 100 plants (en mg)		5,6	10,9	23,5	36,1	55,4	66,6	84,4
Rapport de la masse de Ca^{++} emmagasinée par 100 plants à celle mise à leur disposition (en %)		28,0	27,2	27,9	22,5	17,2	10,3	6,8
Rapport de la masse de Ca^{++} (mg/g) des tissus secs au Ca^{++} initial externe (en mg par ml)		150,0	137,5	127,3	96,8	65,6	39,3	29,9

des deux concentrations (taux de Ca soluble des tissus secs/concentration de Ca initiale externe) est égal dans le cas des milieux à 0,5 et 1 ml Ca^{++} et des milieux témoins, mais diminue ensuite progressivement avec l'augmentation des ions Ca^{++} dans le milieu extérieur.

Calcium des cystolithes.

Le carbonate de calcium augmente également avec l'enrichissement des milieux de culture en ions Ca^{++} (tabl. XXXVIII et fig. 35). La pente de la courbe, très forte au début des expériences, diminue ensuite progressivement, de telle sorte que les Pariétaires cultivées sur des milieux à 8, 16 et 32 ml Ca^{++} ne présentent pas de différences significatives dans leur

TABLEAU XXXVIII

Influence des ions calcium sur le carbonate de calcium
du *Parietaria officinalis*

Grandeur considérée		Concentration de Ca^{++} en mI						
		0,5	1	2,1 témoins	4	8	16	32
Taux de Ca^{++} contenu dans les tissus secs(mg/g)	I		7	11	12	21	15	16
	II		8	10	12	16	17	22
	III		7	11	13	17	17	20
	IV	5	7	10	13	19	16	
Moyenne		5	7,2	10,5	12,5	18,2	16,2	19,3
Masse de Ca^{++} conte- -nue dans 100 plants (en mg)		10,6	14,7	22,3	30,7	49,1	42,8	44,7
Rapport de la masse de Ca^{++} emmagasinée par 100 plants à celle mise à leur disposition(en %)		53,0	36,7	26,5	19,1	15,3	6,6	3,4
Rapport de la masse de Ca^{++} (mg/g) des tissus secs au Ca^{++} initial externe(en mg par ml)		250,0	180,0	125,0	78,1	56,8	25,3	15,0

teneur en carbonate de calcium. Il faut donc admettre que les cystolithes des Pariétaires cultivées sur les milieux à 8 mI Ca^{++} atteignent leur maximum de calcification qui se maintient dans la suite des expériences.

Calcium des oxalates.

Le taux des oxalates de calcium est toujours très faible. Aussi, malgré les artifices employés pour diminuer les erreurs, les variabilités sont toujours assez grandes et ne permettent, avec la quantité de matériel végétal employé, que de tirer des conclusions grossières à leur sujet. Il semble que les oxalates augmentent peu à peu lorsqu'on ajoute du calcium dans le milieu de culture (tabl. XXXIX et fig. 35). Mais ils atteignent très rapidement un taux maximum, de telle sorte que les valeurs trouvées pour les Pariétaires provenant de milieux à 2,1 mI Ca^{++} , ou plus riches en cal-

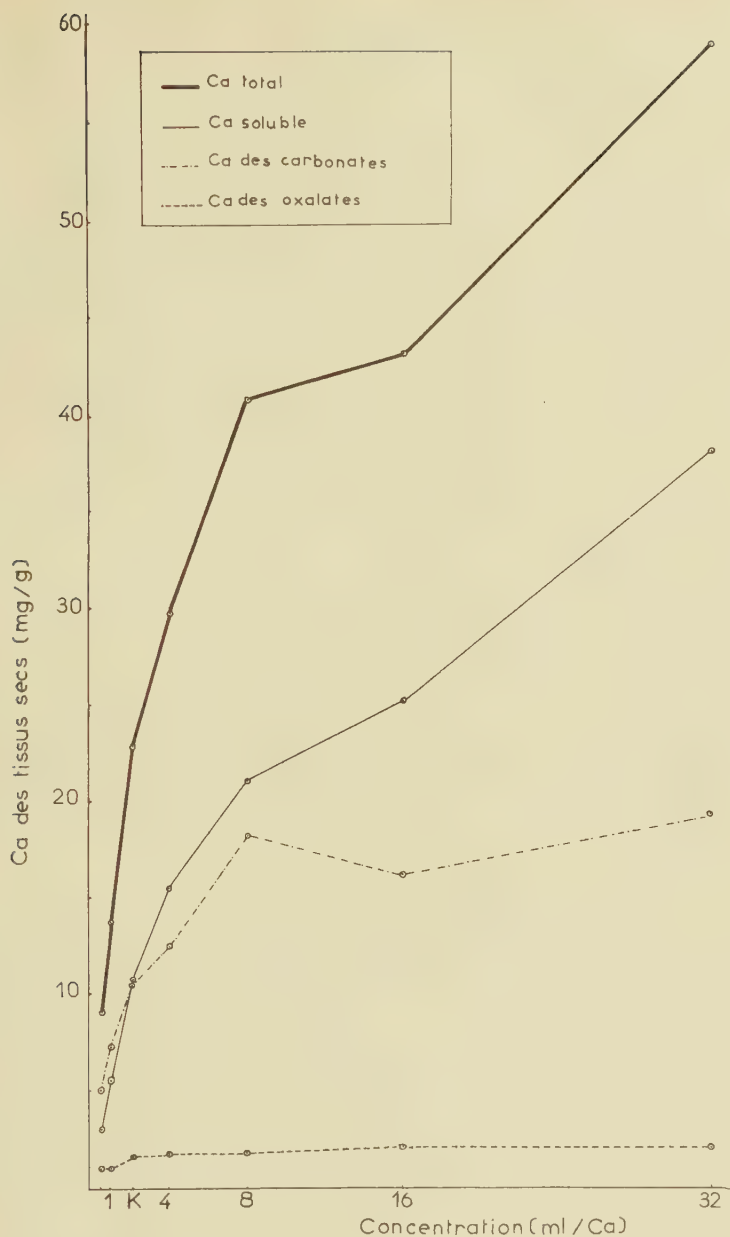


Fig. 35. — Influence des ions calcium sur le taux des différentes formes de calcium de la Pariétaire.

Le calcium total et le calcium soluble sont sous l'étroite dépendance de la teneur du milieu extérieur en cet élément. Les cystolithes, au contraire, atteignent bientôt un maximum de calcification. L'oxalate de calcium ne semble pas tributaire de la concentration externe du Ca^{++} .

TABLEAU XXXIX

Influence des ions calcium sur l'oxalate de calcium
du *Parietaria officinalis*

Grandeur considérée	Concentration de Ca^{++} en mI						
	0,5	1	2,1 témoins	4	8	16	32
Taux de Ca^{++} contenu dans les tissus secs (mg/g)	I	1	2	2	2	2	2
	II	1		2	1	2	Ind.
	III	1	1	1	2	2	2
	IV	1	1	2	2	2	
Moyenne	1	1,0	1,6	1,7	1,7	2,0	2
Masse de Ca^{++} conte- -nue dans 100 plants (en mg)	2,7	2,1	3,6	4,3	5,0	4,4	4,2
Rapport de la masse de Ca^{++} emmagasinée par 100 plants à celle mise à leur disposition (en %)	13,5	5,2	4,2	2,6	1,5	0,6	0,3
Rapport du Ca^{++} (mg/g) des tissus secs au Ca^{++} initial externe (en mg par ml)	50,0	25,0	19,0	10,6	5,3	3,1	1,0

TABLEAU XL

Influence des ions Ca^{++} sur le calcium total
du *Parietaria officinalis*

Grandeur considérée	Concentration de Ca^{++} en mI						
	0,5	1	2,1 témoins	4	8	16	32
Taux de Ca^{++} contenu dans les tissus secs (mg/g)	9	13,7	22,8	29,7	40,9	43,4	59,6
Masse de Ca^{++} conte- -nue dans 100 plants (en mg)	18,9	27,7	49,4	71,1	109,5	113,8	133,3
Rapport de la masse de Ca^{++} emmagasinée par 100 plants à celle mise à leur disposition (en %)	94,5	69,1	58,6	44,2	34,0	17,5	10,5
Rapport du Ca^{++} (mg/g) des tissus secs au Ca^{++} initial externe (en mg par ml)	450,0	347,5	271,4	185,6	117,8	67,8	46,0

cium, indiquent des concentrations en oxalates dont les différences ne sont pas significatives.

Calcium total.

On retrouve l'augmentation du taux de calcium avec la concentration croissante de cet élément dans le milieu extérieur. Le tableau XL montre que les Pariétaires absorbent à peu près tout le calcium mis à leur disposition dans les milieux à 0,5 mI Ca^{++} . Mais le pourcentage de calcium absorbé par les plants diminue au fur et à mesure que cet élément augmente dans le milieu extérieur. Ceci explique la diminution du rapport des concentrations interne et externe de cet ion au fur et à mesure qu'il augmente dans le milieu extérieur.

III. — ETUDE DES IONS MAGNÉSIUM

A. — Carence magnésienne

1) ACTION SUR LA CROISSANCE

Les Pariétaires carencées en magnésium restent toujours petites comparativement aux témoins (pl. VIA et tabl. XLI), leurs bourgeons cependant demeurent normaux, contrairement à ce que nous avons observé dans la carence calcique. Au fur et à mesure de leur croissance, les

TABLEAU XLI

Effet de la carence magnésienne sur les poids sec et frais de la Pariétaire et sur la teneur en eau des tissus

(Moyennes sur les valeurs obtenues au cours de trois expériences portant chacune sur 20 plants)

O = milieu sans magnésium — T = milieu témoin

Grandeur considérée	Milieu	
	O	T
Poids frais d'un plant (en mg)	118,8	158,1
Poids sec d'un plant (en mg)	12,9	21,0
Teneur en eau des tissus (en % du poids frais)	87,9	87,1

feuilles se chlorosent puis tombent. Cette défoliation est très caractéristique des plants carencés en magnésium qui ne comptent jamais plus de 5 ou 6 feuilles en plus du bourgeon principal.

On peut constater, en outre, que le manque de magnésium n'a pas d'action sur la teneur en eau des Pariétaires.

2) ACTION SUR LES DIFFÉRENTES FORMES DE CALCIUM DES TISSUS

L'examen du tableau XLII montre que les variations du taux des différentes formes de calcium des plants carencés en magnésium, par rapport à celui des témoins, sont de faible amplitude. Toutefois, dans tous les cas, le fait de supprimer le magnésium dans le milieu extérieur provoque une légère diminution de ces différents taux.

TABLEAU - XLII

Effets de la carence magnésienne sur le taux des différentes formes de calcium, exprimé en mg par g de substance sèche
O = milieu sans magnésium — T = milieu témoin
(Moyennes sur 3 séries de dosages pour O et sur 4 séries pour T)

Grandeur considérée	Milieu	
	O	T
Ca soluble	9,9	11,7
Ca des carbon.	9,3	11,5
Ca des oxalates	1,4	1,5
Ca total	20,6	24,7

Le tableau XLIII montre, par contre, que la masse absorbée par 100 plants est considérablement réduite dans les milieux sans magnésium. On doit donc penser que l'absence de magnésium a freiné l'entrée du calcium dans les Pariétaires. Un examen microscopique des cystolithes de feuilles F_6 prises sur les témoins et sur les plantes carencées en magnésium montre d'ailleurs que, dans ce dernier cas, les cystolithes calcifiés occupent une très faible partie des lithocystes contrairement à ceux des témoins (fig. 36).

Soulignons que les résultats obtenus ne peuvent provenir de l'adjonction de 1 mI Na⁺ remplaçant le magnésium dans les milieux carencés. En effet, à cette concentration, le chlorure de sodium provoque une aug-

mentation de l'absorption du calcium par les plantes et non une diminution comme c'est le cas ici.

TABLEAU XLIII

Effets de la carence magnésienne
sur la masse (en mg) des différentes formes de calcium
emmagasiniées par 100 plants de Pariétaires
O = milieu sans magnésium — T = milieu témoin
(Moyennes sur 3 séries de dosages pour O et sur 4 séries pour T)

Grandeur considérée	Milieu	
	O	T
Ca soluble	13,8	22,5
Ca des carbonates	12,5	25,1
Ca des oxalates	2,9	3,7
Ca total	29,0	51,3
Rapport de la masse de Ca emmagasinée par 100 plants à celle mise à leur disposition (en %)	34,4	60,0

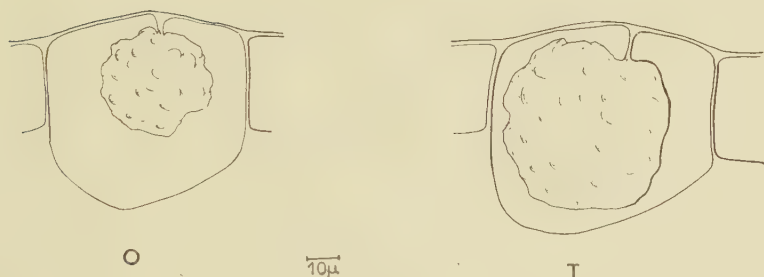


Fig. 36. — Influence de la carence magnésienne sur les cystolithes des Pariétaires.
Examen fait sur une feuille F₆. O = cystolithe de plant carencé ; T = cystolithe des témoins.

B. — Action des ions magnésium

1) ACTION SUR LA CROISSANCE

Il y a peu de magnésium dans le milieu de Knop utilisé : 0,5 mI. C'est la première concentration étudiée, et l'on sait déjà que les Pariétaires

poussent bien sur ce milieu. Si l'on augmente la quantité de magnésium externe, les Pariétaires se développent tout d'abord en fonction de cette dernière. L'optimum de concentration se situe aux environs de 4 mI (pl. VI A et tabl. XLIV), soit huit fois plus de magnésium que dans le milieu témoin. Au-delà de cette concentration, les plants, un peu moins développés, ne présentent pas de caractéristiques particulières.

Le magnésium a une action assez difficile à interpréter sur la teneur en eau des différents plants considérés. Celle-ci a tendance à diminuer

TABLEAU XLIV

Influence des ions magnésium sur les poids sec et frais des Pariétaires et la teneur en eau de leurs tissus

Grandeur considérée		Concentration de Mg^{++} en mI						
		0,5 témoins	1	2	4	8	16	32
Poids sec (mg)	II	25,8	21,9	33,2	45,5	29,4	25,8	16,0
	III	13,4	27,5	39,4	45,9	36,7	41,9	28,3
	IV	23,8	26,5	26,2	29,8	24,8	20,6	15,5
	Moyenne	21,0	25,3	32,9	40,4	30,3	29,4	19,9
Poids frais (mg)	II	182,1	172,9	178,6	293,1	260,4	210,8	178,5
	III	116,0	227,5	298,0	389,4	328,1	363,2	313,2
	IV	176,3	203,8	243,9	242,4	248,5	190,6	153,6
	Moyenne	158,1	201,4	240,1	308,3	279,0	254,8	215,1
Teneur en eau (en % du poids frais)	I	87,4	87,3		86,4	89,9	90,5	87,9
	II	85,8	87,3	81,4	84,5	88,8	87,8	91,1
	III	88,5	87,9	86,8	88,3	88,9	88,5	91,0
	IV	86,5	87,0	89,3	87,7	90,1	89,2	90,0
	Moyenne	87,0	87,4	85,8	86,7	89,4	89,0	90,0

jusqu'à 2 ou 4 mI Mg^{++} . Dans les milieux plus riches en magnésium, la teneur en eau des tissus augmente et, en particulier, les Pariétaires provenant de milieux à 32 mI Mg^{++} sont très aqueuses.

2) ACTION SUR LES DIFFÉRENTES FORMES DE CALCIUM

Calcium soluble.

L'examen du tableau XLV et de la figure 37 montre que les variations du taux de calcium soluble en fonction de la concentration de Mg^{++} dans le milieu extérieur sont de faible amplitude. On peut constater, cependant, qu'après une légère augmentation de ce taux (jusqu'à 1 mI Mg^{++}) s'amorce une baisse progressive jusqu'à la fin des expériences. Dans les milieux à 32 mI Ca^{++} on assiste, il est vrai, à une remontée du taux de calcium. Ceci est dû à une hyperhydricité des tissus (cf. tabl. XLIV) et le calcium suit alors les mouvements de l'eau.

TABLEAU XLV

Influence des ions magnésium sur le calcium soluble
du *Parietaria officinalis*

Ca/sec = Taux de Ca^{++} contenu dans les tissus secs (en mg/g)

Ca pour 100 plants = Masse de Ca^{++} contenue dans 100 plants (en mg)

Grandeur considérée		Concentration de Mg^{++} en mI						
		0,5 témoins	1	2	4	8	16	32
Ca/sec	I	12	15	12		11	11	10
	II	8	14	9	8	8	8	9
	III	14	13	14	11	11	9	13
	IV	13	9	10	9	10	9	9
Moyenne		11,7	12,7	11,2	9,3	10,0	9,2	10,2
Ca pour 100 plants		22,5	30,9	37,6	38,4	29,0	26,2	22,3

Enfin, la masse de calcium absorbée par 100 plants augmente jusqu'à l'optimum de croissance (4 mI), puis diminue pour les concentrations supérieures en Mg^{++} .

Calcium des carbonates.

L'examen du tableau XLVI et de la figure 37 montre que les variations du calcium des carbonates, en fonction de la concentration externe en magnésium, sont également faibles, et c'est à partir de 2 mI Mg^{++} que le taux des carbonates diminue dans les tissus végétaux.

TABLEAU XLVI

Influence des ions magnésium sur le carbonate de calcium
du *Parietaria officinalis*
(Mêmes notations que pour le tableau précédent)

Grandeur considérée		Concentration de Mg^{++} en mI						
		0,5 témoins	1	2	4	8	16	32
Ca/sec	I	11	10	14		12	11	12
	II	10	15	12	9	11	8	11
	III	13	12	11	13	11	9	11
	IV	12	13	13	11	11	10	9
Moyenne		11,5	12,5	12,5	11,0	11,2	9,5	10,7
Ca pour 100 plants		25,1	33,3	39,0	45,4	33,7	27,0	21,4

TABLEAU XLVII

Influence de l'ion magnésium sur le calcium des oxalates
du *Parietaria officinalis*
(Mêmes notations que pour les tableaux précédents)

Grandeur considérée		Concentration de Mg^{++} en mI						
		0,5 témoins	1	2	4	8	16	32
Ca/sec	I	1	1	Ind.		1	1	
	II	2	2	1	2	2	2	1
	III	2	1	1	2	1	1	1
	IV	1	1	1	1	1	1	Ind.
Moyenne		1,5	1,2	1	1,6	1,2	1,2	1
Ca pour 100 plants		3,7	3,5	4,4	6,2	4,6	3,6	3,2

Calcium des oxalates.

Le taux des oxalates de calcium paraît peu influencé par la présence, en quantité plus ou moins forte, des ions magnésium dans les milieux de culture (tabl. XLVII et fig. 37). La masse de calcium absorbée augmente légèrement jusqu'à 4 ml Mg^{++} , c'est-à-dire jusqu'à l'optimum de croissance, puis diminue pour les concentrations supérieures. Mais les variations, nous l'avons déjà dit, sont toujours très grandes dans les dosages du calcium des oxalates, aussi l'influence du magnésium sur ces derniers demeure-t-elle très incertaine.

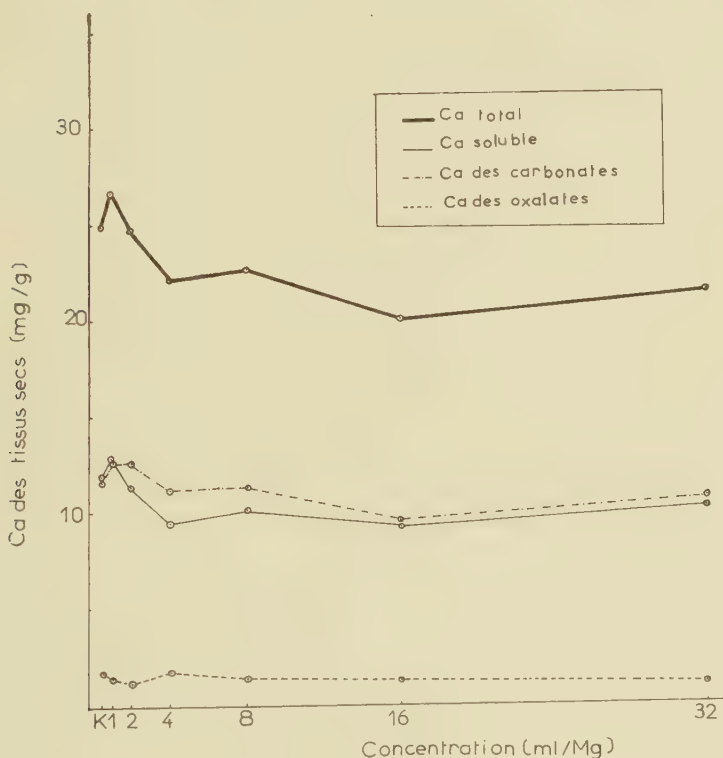


Fig. 37. — Influence des ions magnésium sur le taux des différentes formes de calcium de la Pariétaire.

L'optimum de concentration du magnésium se situe aux environs de 1 ml. Mais les variations des différents taux de calcium sont toujours très faibles.

Calcium total.

L'examen critique du tableau XLVIII permet de voir que le taux de calcium et les masses correspondantes absorbées varient dans le même

sens pour les milieux à 0,5 et 1 mI Mg^{++} . Il y a certainement action directe du magnésium sur l'absorption du calcium par les plants. Cependant, pour les milieux à 4 mI Mg^{++} , le taux de calcium commence à diminuer bien que les Pariétaires absorbent toujours du calcium. Aussi est-il impossible de dire si le magnésium, ici, agit directement sur le taux de calcium trouvé. Rappelons, en effet, que l'optimum de croissance se trouve aux environs de 4 mI Mg^{++} . Ainsi, par suite d'une croissance plus forte des Pariétaires, et malgré une forte absorption du calcium, il se peut que le taux de ce dernier diminue. Mais dans les plants à 8 et 16 mI Mg^{++} , le taux du calcium reste stationnaire ou a tendance à diminuer en même temps que le calcium absorbé diminue fortement. Il est très net qu'ici l'ion Mg^{++} , qui commence, nous l'avons vu, à être toxique pour la croissance, freine également l'entrée des ions calcium dans les plantes.

Il ressort de ces expériences que la concentration en magnésium du milieu de Knop n'est pas optimum et que les Pariétaires poussent mieux lorsqu'on augmente la quantité de cet élément jusqu'à 4 mI.

TABLEAU XLVIII

Influence du magnésium sur le calcium total
du *Parietaria officinalis*
(Mêmes notations que pour les tableaux précédents)

Grandeur considérée		Concentration de Mg^{++} en mI						
		0,5 témoins	1	2	4	8	16	32
Ca/sec	I	24	26	26		24	23	22
	II	20	31	22	19	21	18	21
	III	29	26	26	26	23	19	25
	IV	26	23	24	21	22	20	18
Moyenne		24,7	26,5	24,5	22,0	22,5	20,0	21,5
Ca pour 100 plants		51,3	67,7	81,0	90,0	67,3	56,8	46,9

HELLER a montré, dans ses recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux (1953), que l'action du chlorure de sodium sur la croissance provient des ions Na^+ et non Cl^- . S'il en est de même pour l'action de ce sel sur l'absorption du calcium, on peut dire que les résultats trouvés ici proviennent bien du magnésium puisque les milieux expérimentés

sont tous plus concentrés que le milieu témoin et ne renferment donc pas d'ions Na^+ (cf. tableau III). On peut en conclure, par conséquent, que jusqu'à une concentration de 1 mI (inférieure à celle qui produit l'optimum de croissance), l'adjonction de magnésium dans les milieux de culture facilite l'absorption du calcium. Au-dessus de 2 mI, son action, trop insuffisante, est masquée par la croissance très forte du matériel analysé. Mais au-delà de 4 mI et jusqu'à 16 mI g/l, le magnésium freine nettement l'entrée du calcium dans les Pariétaires et les cystolithes suivent ces variations.

Notons cependant que, si le chlorure de sodium agit sur l'entrée du calcium dans la plante par son ion Cl^- et non Na^+ , les résultats obtenus ici peuvent s'interpréter différemment. En effet, nous avons vu que le taux du calcium augmente lorsque la teneur en magnésium s'élève dans le milieu extérieur mais ne dépasse pas 1 à 2 mI, c'est-à-dire pour un milieu renfermant de 1 à 3 mI Cl^- . Ce taux diminue ensuite. Or, les résultats obtenus lors de l'étude du chlorure de sodium montrent que l'optimum d'absorption se situe vers 2 mM ClNa . Il s'ensuit que l'action du magnésium dans ce cas serait assez faible et peut-être même insignifiante.

IV. — ÉTUDE DES IONS POTASSIUM

A. — Carence potassique

1) ACTION SUR LA CROISSANCE

Les plantes carencées en potassium sont un peu moins développées que les témoins (Planche VIB et tabl. XLIX). Ceci est surtout sensible en com-

TABLEAU XLIX

Effet de la carence potassique sur les poids sec et frais de la Pariétaire et sur la teneur en eau des tissus

(Moyennes sur les valeurs obtenues au cours de 3 séries d'expériences)

O = Milieu sans potassium — T = Milieu témoin

Grandeur considérée	Milieu	
	O	T
Poids frais (mg)	134,0	157,8
Poids sec (mg)	16,2	16,5
Teneur en eau des tissus (en % du poids frais)	88	89,5

parant les poids frais des Végétaux, car le manque de potassium diminue légèrement la teneur en eau des tissus. Ces plantes, cependant, gardent un aspect normal, et il n'apparaît aucun signe caractéristique de carence comme dans le cas des carences calcique ou magnésienne.

2) ACTION SUR LES DIFFÉRENTES FORMES DE CALCIUM

L'examen du tableau L montre que les taux des différentes formes de calcium des plants carencés en potassium sont beaucoup plus forts que ceux des témoins. De même, la masse de calcium emmagasinée, sous quelque forme que ce soit, par les différents plants, est augmentée quand on supprime le potassium dans les milieux de culture (tabl. LI). Aussi les plants carencés parviennent-ils à absorber les 80 % du calcium mis à leur disposition contre 50 % pour les témoins.

On a l'impression que le potassium freinant normalement l'absorption du calcium, ce dernier est capté en abondance par les Pariétaires lorsque les ions K^+ sont absents dans le milieu extérieur.

Les résultats obtenus peuvent cependant provenir, en partie, des ions Na^+ remplaçant les ions K^+ dans les milieux carencés. En effet, ces milieux renferment 2,1 mI Na^+ , or on a vu que pour 2 mM $ClNa$ l'absorption du calcium atteint son maximum. Mais les valeurs trouvées sont toujours plus faibles que celles obtenues au cours de la carence potassique.

TABLEAU L

Effet de la carence potassique sur le taux des différentes formes de calcium exprimé en mg par g de substance sèche

(Moyennes sur les valeurs trouvées au cours de 3 séries de dosages)

O = Milieu sans potassium — T = Milieu témoin

Grandeur considérée	Milieu	
	O	T
Ca soluble	20,6	12,0
Ca des carbonates	17,8	14,0
Ca des oxalates	2,9	2,0
Ca total	41,3	28,0

TABLEAU LI

Effet de la carence potassique sur la masse (en mg)
des différentes formes de calcium emmagasinées par 100 plants de Pariétaires
(Moyennes sur les valeurs trouvées au cours de 3 séries de dosages)
O = Milieu sans potassium — T = Milieu témoin

Grandeur considérée	Milieu	
	O	T
Ca soluble	33,5	20,2
Ca des carbonates	28,8	23,1
Ca des oxalates	4,8	2,7
Ca total	67,1	46,0
Rapport de la masse de Ca emmagasinée par 100 plants à celle mise à leur disposition (en %)	79,7	54,6

B. — Actions des ions potassium

1) ACTION SUR LA CROISSANCE

Les Pariétaires sont peu sensibles aux variations de l'ion K^+ . On a vu que la suppression du potassium permet encore une croissance diminuée, mais normale. Mais plus on augmente la quantité de cet élément, meilleure devient la croissance sans que la teneur en eau des tissus ne subisse de variations sensibles (Planche VIB et tabl. LII). Aucun des milieux de culture utilisés n'a permis de déceler une toxicité du potassium. L'optimum, s'il y en a un, doit donc intervenir pour des concentrations supérieures à celles utilisées de l'ion K^+ .

TABLEAU LII

Influence du potassium sur les poids sec et frais des Pariétaires
et la teneur en eau de leurs tissus

Grandeur considérée		Concentration de K ⁺ en ml					
		1,2	2,1 témoins	4	8	16	32
Poids sec (mg)	I	12,0	15,9		13,6	22,0	
	II	13,0	16,9	21,3	23,9	28,8	30,0
	III	10,8	16,8	29,4	28,1	32,0	41,1
	Moyenne	11,9	16,5	25,3	21,8	27,6	35,5
Poids frais (mg)	I	134,5	160,1		151,0	284,4	
	II	130,1	170,2	210,5	228,8	279,9	300,6
	III	94,8	143,1	233,5	228,7	282,5	356,4
	Moyenne	119,8	157,8	222,0	202,8	282,2	328,5
Teneur en eau (en % du poids frais)	I	91,1	90,1		91,0	92,3	
	II	90,0	90,1	89,9	89,6	89,8	90,1
	III	88,6	88,3	87,5	87,7	88,7	88,5
	Moyenne	89,9	89,5	88,7	89,4	90,3	89,3

2) ACTION SUR LES DIFFÉRENTES FORMES DE CALCIUM

Calcium soluble.

Dans tous les cas considérés, l'action du potassium semble très nette (fig. 38 et tabl. LIII). Une augmentation du taux de cet ion, dans le milieu extérieur, correspond à une diminution de la teneur des Pariétaires en ions Ca⁺⁺. En réalité, si nous considérons les différentes quantités de calcium emmagasinées par 100 plants, nous voyons qu'elles sont sensiblement constantes et ne présentent aucune différence entre elles.

TABLEAU LIII

Influence de l'ion potassium sur le calcium soluble dans le nitrate de sodium
du *Parietaria officinalis*

Ca/sec = Taux du calcium contenu dans les tissus secs (en mg/g)

Ca pour 100 plants = Masse de Ca contenue dans 100 plants (en mg)

Grandeur considérée		Concentration de K ⁺ en mI					
		1,2	2,1 témoins	4	8	16	32
Ca/sec	I	18	14		10	5	
	II	17	12	10	9	7	6
	III	17	10	10	9	8	5
Moyenne		17,3	12,0	10,0	9,3	6,6	5,5
Ca pour 100 plants		20,5	20,2	25,0	20,3	18,9	19,9

Calcium des carbonates (tabl. LIV et fig. 38).

Les résultats des dosages permettent de voir que l'action du potassium sur le carbonate des cystolithes est la même que sur le calcium soluble.

TABLEAU LIV

Influence de l'ion potassium sur le calcium des carbonates
du *Parietaria officinalis*

(Mêmes notations que pour le tableau précédent)

Grandeur considérée		Concentration de K ⁺ en mI					
		1,2	2,1 témoins	4	8	16	32
Ca sec	I	17	14		8	9	
	II	17	14	10	9	8	6
	III	18	14	10	9	8	6
Moyenne		17,3	14,0	10,0	8,6	8,3	6,0
Ca pour 100 plants		20,7	23,1	26,1	20,6	22,4	22,4

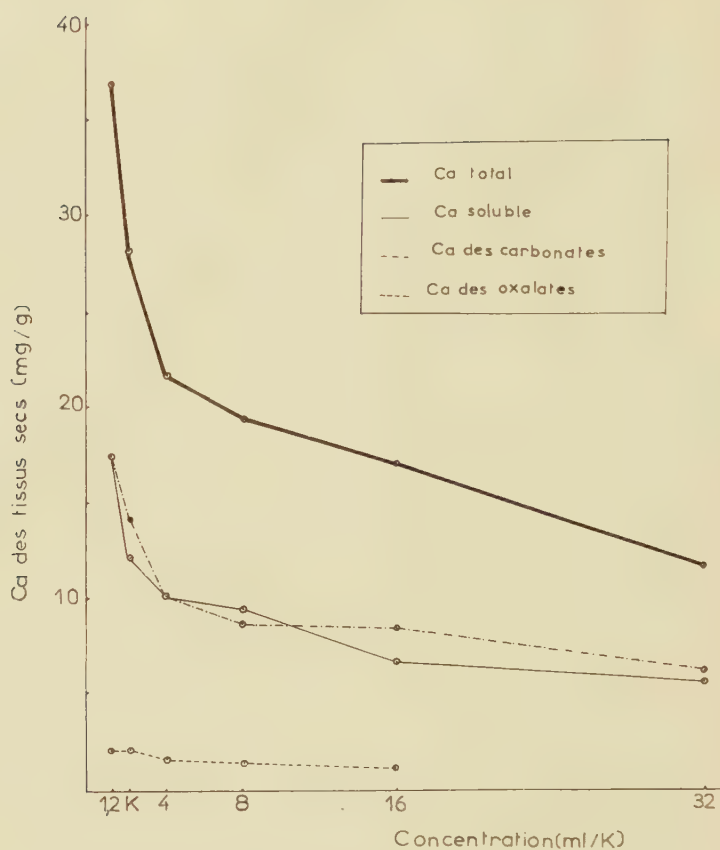


Fig. 38. — Influence des ions potassium sur le taux des différentes formes de calcium de la Pariétaire.

Les différentes formes de calcium diminuent avec les concentrations croissantes du potassium dans le milieu extérieur.

Calcium des oxalates (tabl. LV et fig. 38).

On retrouve ici les mêmes variations que précédemment, et dans les milieux à 32 ml K⁺ l'oxalate devient indosable.

Calcium total.

L'examen du tableau LVI permet de comprendre l'action du potassium sur l'absorption calcique des Pariétaires. Nous voyons, en effet, que le taux de calcium total des tissus diminue au fur et à mesure que le potassium aug-

TABLEAU LV

Influence de l'ion potassium sur le calcium des oxalates
du *Parietaria officinalis*
(Mêmes notations que pour les tableaux précédents)

Grandeur considérée		Concentration de K ⁺ en mI					
		1,2	2,1 témoins	4	8	16	32
Ca/sec	I	Ind.	2		2	1	
	II	2	2	1	1	1	Ind.
	III	2	2	2	1	1	Ind.
Moyenne		2,0	2,0	1,5	1,3	1,0	Ind.
Ca pour 100 plants		2,4	2,7	3,9	2,9	3,2	Ind.

mente dans le milieu extérieur. Cependant, la quantité de calcium emmagasinée par 100 plants reste sensiblement constante, et, dans tous les cas, les Pariétaires absorbent environ 50 % du calcium mis à leur disposition.

Tout ceci nous permet donc de penser que la diminution du taux de calcium des tissus ne provient peut-être pas de l'action directe du potassium

TABLEAU LVI

Influence du potassium sur le calcium total du *Parietaria officinalis*

Grandeur considérée	Concentration de K ⁺ en mI					
	1,2	2,1 témoins	4	8	16	32
Taux de Ca ⁺⁺ contenu dans les tissus secs (mg/g)	36,6	28,0	21,5	19,2	15,9	11,5
Masse de Ca ⁺⁺ contenue dans 100 plants (mg)	43,6	46,0	54,9	43,8	44,5	41,8
Rapport de la masse de Ca ⁺⁺ emmagasinée par 100 plants à celle mise à leur disposition (en %)	51,8	54,6	65,2	52,0	52,9	49,7

sur l'absorption du calcium. Les résultats obtenus peuvent n'être, en effet, que la conséquence de l'action du potassium sur la croissance des Pariétaires.

Une telle hypothèse avait déjà été formulée par HELLER au sujet de l'action des différentes doses d'auxine sur la teneur en divers éléments minéraux de culture de tissus de Carotte. Cependant, dans les milieux carencés en potassium, le calcium est alors plus fortement absorbé par les plantes qui en captent environ 80 % de ce qui est mis à leur disposition (cf. tabl. LI).

Au total, le potassium semble avoir deux rôles principaux :

— 1°) Il active la croissance de la Pariétaire qui peut supporter de très fortes concentrations de potassium sans que cet élément soit toxique.

— 2°) Il a une action sur la vitesse de pénétration du calcium. Ainsi, en freinant l'entrée de cet élément et en agissant sur la croissance des plantes, il provoque une diminution du taux de calcium au fur et à mesure que la croissance des Pariétaires augmente. Pour confirmer de façon définitive cette hypothèse, il faudrait, en augmentant les doses de potassium dans le milieu extérieur, étudier si, lorsqu'il devient toxique pour la plante, le taux de calcium par rapport au poids sec ou frais du végétal augmente.

Notons cependant que si l'ion Na^+ a une action sur l'absorption du calcium, les résultats obtenus avec les milieux à 1,2 mI K^+ peuvent être dus en partie à cet ion. Ces milieux, en effet, renferment 0,9 mI Na^+ et provoquent une augmentation du taux de calcium des Pariétaires comparé au taux de cet élément dans les témoins. Les résultats sont donc parallèles à ceux obtenus dans l'étude du chlorure de sodium. Mais, dans ce cas, les résultats obtenus avec les milieux à 4, 8, 16 et 32 mI K^+ , qui ne renferment pas de sodium, proviennent bien de l'ion potassium seul.

Supposons, au contraire, que l'ion Cl^- soit seul responsable des différences d'absorption du calcium par les Pariétaires ensemencées sur des milieux plus ou moins riches en ClNa . Dans ce cas, l'action réelle du potassium au début des expériences est plus considérable qu'elle ne le paraît dans nos expériences. En effet, en passant du milieu témoin sans chlore à un milieu contenant 4 mI K^+ c'est-à-dire 1,9 mI Cl^- le taux de Ca^{++} des Végétaux diminue, alors qu'il augmentait dans les expériences sur le chlorure de sodium.

V. — DISCUSSION

Au cours de ces recherches, nous avons vu que le chlorure de sodium n'a pas une action négligeable sur les Pariétaires. Il favorise leur croissance, ce qui est en accord avec les travaux de RATNER, 1935 ; LUNDEGARDH, 1940 ; HARMER et coll., 1945 ; SCHREIBER et coll., 1957. De plus, si les faibles taux de ce sel dans le milieu extérieur (2 mM) favorisent l'absorption du

calcium, cette dernière est très vite freinée par des concentrations plus fortes de chlorure de sodium, comme l'ont montré avant nous RATNER et SCHREIBER.

L'étude des carences a permis de retrouver les symptômes maintes fois décrits par nos devanciers :

— Pas de racines adventives et nécroses des bourgeons provoquées par l'absence de calcium (DAY, 1929, 1935 ; SOROKIN et coll., 1929 ; NIGHTINGALE et coll., 1931 ; BAMFORD, 1931 ; GAUCH, 1940 ; MESSING et coll., 1954 ; KALRA, 1955 ; TEZUKA, 1959).

— Chlorose et défoliation dues à l'absence de magnésium (DROSDOFF, 1954).

— Les Pariétaires, au contraire, peuvent croître presque normalement sur les milieux sans potassium. Seule la teneur en eau des tissus diminue légèrement (BUSLOVA, 1958).

— L'absorption du calcium est très fortement freinée par la présence des ions potassium. Quand ceux-ci sont absents du milieu de culture, les Pariétaires accumulent une très grande quantité de calcium mis à leur disposition (environ 80 %). Si l'on compare les tableaux XXXVII, XXXVIII et L, on s'aperçoit que, dans ce dernier cas, le taux de calcium soluble et sous forme de carbonate est analogue à celui des Pariétaires cultivées sur des milieux à 8 mI Ca^{++} . Or, nous avons vu que, pour ces milieux, les cystolithes atteignent leur maximum de calcification. On peut donc penser qu'il en est de même ici.

L'oxalate de calcium atteint également de très fortes valeurs. Or, dans toutes les autres expériences entreprises au cours de ce chapitre, ce sel semblait peu tributaire de la masse de calcium absorbée, ce qui laisserait supposer qu'il se forme avant tout en fonction de la quantité des ions oxaliques dans les tissus. Aussi peut-on penser que le manque de potassium agit non seulement sur l'absorption du calcium, mais encore sur la formation des ions oxaliques.

La carence magnésienne influe également sur l'absorption du calcium, mais freine la pénétration de cet ion.

Ceci est en accord avec les conceptions de SCHREIBER et coll. (1957) qui trouvent que le taux de calcium des plantes est comparativement plus faible quand le calcium est seul dans le milieu extérieur que s'il y a aussi une petite proportion de magnésium.

De plus, l'étude des différents ions permet de mieux comprendre le mécanisme de la calcification.

— Rappelons que HABERLANDT (1924), JAKOVLEVITC (1925), FREISLEBEN (1933), FREY WYSSLING (1935), considèrent les cystolithes comme des sortes de réservoirs dans lesquels viendrait s'accumuler le calcium en

excès. Mais lorsqu'on étudie la répartition des diverses formes de calcium en fonction de la quantité de cet ion fournie dans le milieu de culture, et cela sur des plants tous de même âge, on s'aperçoit immédiatement que l'hypothèse de nos prédécesseurs est fausse. En effet, dès que le milieu renferme des ions Ca^{++} , les cystolithes se calcifient. Si on augmente la quantité de calcium, jusqu'à la fournir en excès, on constate que les cystolithes grossissent, puis atteignent un maximum de calcification au-delà duquel c'est le calcium soluble seul qui continue à augmenter. Or, si les cystolithes ne servaient qu'à éliminer le calcium en excès, il faudrait supposer que ceux-ci se forment dès que le taux de calcium soluble a atteint une certaine valeur qui ne devrait plus varier de façon appréciable malgré l'augmentation de la concentration externe du Ca^{++} . Seul devrait augmenter alors le calcium des cystolithes. Nous pouvions être tentée d'adopter cette idée à la suite des dosages faits sur les plants d'âges différents ensemencés sur du Knop. Mais nous voyons que, pour des Végétaux de même âge, il est possible, par l'intermédiaire de la composition du milieu externe, d'agir sur le taux du calcium soluble, et, en particulier dans le cas des milieux à différentes concentrations en calcium, seul le taux des cystolithes atteint un maximum cependant que le calcium soluble continue à augmenter avec les concentrations externes croissantes de cet ion.

Le fait que les oxalates de calcium ne subissent pas de variations significatives, selon les différents taux de calcium dans le milieu extérieur, pourrait nous permettre de reconnaître comme valable l'hypothèse de BOLLÉ (1951). Dans son travail sur les fonctions excrétrices des palettes de l'*Hedysarum Coronarium*, cet auteur pense que le CaCO_3 serait excrété, car le calcium est en excès et ne peut être précipité sous forme d'oxalate par suite du manque d'acide oxalique. Cette hypothèse se confirme par le fait qu'il n'a jamais été possible de détecter des oxalates solubles dans les Pariétaires. Mais elle ne peut être valable, car les cystolithes ne devraient se former que dans le cas d'un excès de Ca^{++} , or ils sont calcifiés dans les Pariétaires cultivées sur des milieux pauvres en calcium.

Comment alors envisager l'équilibre du calcium dans les plantes à cystolithes ?

On est obligé d'admettre que c'est une conséquence génétique pour la Pariétaire de former des cystolithes. Le fait d'en trouver à l'état de pédicelle dans les germinations cultivées sur des milieux sans calcium confirme cette hypothèse. Mais c'est une nécessité également pour elle de capter du calcium sous forme soluble, utile pour son bon fonctionnement physiologique. Ainsi, si les ions Ca^{++} sont, pour une raison quelconque, absorbés en trop faible quantité, la plante en accumule une forte proportion sous forme de cystolithes, une faible partie est utilisée pour neutraliser les ions oxaliques, une partie plus importante reste sous forme soluble ou liée et

joue directement un rôle dans le métabolisme. Si au contraire la plante a beaucoup de calcium à sa disposition, la saturation des ions oxaliques est rapidement atteinte. A partir de ce moment, le Végétal répartit son calcium sous forme soluble et sous forme de carbonates, de telle sorte que les cystolithes seaturent peu à peu et deviennent très volumineux. Enfin, lorsque les cystolithes ont atteint leur maximum de calcification, le calcium absorbé en excès ne peut s'accumuler que sous forme soluble. Au fur et à mesure que cette accumulation s'accroît, les Pariétaires poussent moins rapidement et deviennent peu à peu chlorotiques comme l'ont constaté également un grand nombre d'auteurs (MURTREY, 1932 ; GALET, 1951 ; BRANAS, 1952 ; GOUNY, 1953 ; BOULD, 1956 ; BURSTRÖM, 1957).

Cette augmentation du taux du calcium dans les plantes en fonction de sa concentration dans le milieu extérieur est un fait bien connu (WARINGTON, 1934 ; THORP et coll., 1956 ; ALBERADA et coll., 1958). Mais nos études permettent, en outre, de montrer que le calcium devient toxique pour la Pariétaire lorsque sa concentration dans le milieu extérieur est supérieure à 8 mI Ca^{++} . Or, c'est précisément à ce moment que les cystolithes atteignent leur degré de saturation. Ceci laisse supposer qu'ils peuvent avoir une action antitoxique en absorbant une partie du calcium puisé en trop forte quantité par la plante dans le milieu extérieur. Ainsi revenons-nous aux hypothèses de HABERLANDT, JAKOVLEVITC, FREISLEBEN et FREY WYSSLING. Mais tandis que ces auteurs n'envisagent la formation des cystolithes que dans le but d'excrétat, nous pouvons affirmer que la Pariétaire différencie des cystolithes avant même qu'elle ait atteint un taux optimum de calcium soluble actif. Leur formation est donc liée au métabolisme de la plante. C'est la raison pour laquelle, avant qu'ils ne soient saturés, il est nécessaire qu'un équilibre s'établisse entre eux et le calcium soluble (notons que, dans nos expériences, l'équilibre est toujours voisin de 1). C'est pourquoi également le magnésium et le potassium agissent aussi bien sur le calcium des cystolithes que sur le calcium soluble.

— L'action du magnésium s'est traduite par une augmentation des différentes formes de calcium jusqu'à l'optimum de croissance, puis par une diminution des taux de cet élément. On retrouve, là, la corrélation positive Ca/Mg (FERRAND, 1954 ; DROSDOFF, 1954), mais nous avons de plus montré que le magnésium agit vraisemblablement sur la perméabilité des cellules au-delà et en deçà de l'optimum, puisque le taux de calcium varie dans le même sens que le poids du végétal. Cette action du magnésium, cependant, peut provenir, en partie, de l'ion chlore ajouté dans les milieux expérimentés, le chlorure de sodium ayant une action non négligeable sur l'absorption du calcium.

— L'action du potassium, nous l'avons vu, est totalement différente et se traduit par une diminution des différents taux de calcium au fur et à mesure que l'ion K^+ augmente dans le milieu extérieur. On retrouve donc

là l'action antagoniste K/Ca (DAVIS, 1932 ; LOUE, 1954 ; PREVOT et coll., 1954 ; FERRAND, 1954 ; REUTHER et coll., 1954 ; GAUCH, 1957). Mais nous avons, de plus, montré que le potassium n'agit pas sur la perméabilité des cellules comme le magnésium, mais il freine l'entrée du calcium dont le taux diminue de ce fait lorsque la croissance augmente.

Il serait intéressant de savoir si le milieu extérieur, dans les trois cas considérés, agit sur le nombre des cystolithes, ce qui laisserait supposer que la Pariétaire est capable d'en différencier en supplément en cas de besoin, ou si, au contraire, ils sont formés indépendamment des conditions externes et par conséquent purement héréditaires. FREISLEBEN (1933) adopte la première hypothèse parce qu'il trouve qu'une augmentation du calcium dans le milieu extérieur provoque une augmentation du taux des cystolithes par unité de surface des feuilles du *Boehmeria*. Mais il ne tient pas compte de la croissance des feuilles. Aussi peut-on penser, surtout pour les milieux très calcifiés, que le calcium n'agit pas sur le nombre des cystolithes, mais simplement par son action sur la croissance il peut, en diminuant cette dernière, augmenter le taux des cystolithes. Seules donc des études sur le nombre total des cystolithes de feuilles de même âge physiologique et de même surface pourront nous permettre d'élucider la question.

CHAPITRE III

INFLUENCE DU STRONTIUM SUR LES CYSTOLITHES DU *PARIETARIA OFFICINALIS*

Le strontium, comme le calcium, appartient à la famille des alcalino-terreux et a, de ce fait, des propriétés physiques et chimiques très voisines de l'ion Ca^{++} . Aussi beaucoup de travaux ont-ils été faits sur son absorption par les racines et son transport à travers les tissus végétaux, comparés à l'absorption et au transfert de l'ion calcium.

Pour tous les auteurs, le strontium absorbé s'accumule surtout, comme le calcium, dans les feuilles (BOWEN et coll. 1955 et 1956 ; RUSSELL et coll., 1958 ; LOPEZ GONZALEZ et coll., 1958). WALSH (1945) examine son action sur la croissance de quelques Graminées. Pour lui, le strontium peut parfois remplacer le calcium et même, dans certains cas, avoir en présence de Ca^{++} une action stimulatrice. Cependant, il devient toxique pour des taux faibles qui diffèrent d'un genre à l'autre. Cette toxicité variable est due, selon lui, au pourcentage de strontium absorbé par la plante étudiée. Malheureusement, ses expériences, faites sur un mélange de glaise et de détritiques granitiques, ne nous permettent pas de savoir quelles concentrations d'ion Sr^{++} il emploie.

La Pariétaire, qui immobilise une partie du calcium qu'elle absorbe sur ses cystolithes, présente donc un double intérêt pour l'étude de l'utilisation de l'ion strontium. On peut, en effet, se demander :

- 1°) si l'ion Sr^{++} est susceptible d'être utilisé pour sa croissance ;
- 2°) si cette plante est capable de l'immobiliser sur ses cystolithes.

I. — ETUDE GENERALE

A. — Exposé des expériences

Des graines de Pariétaires ont été mises en culture selon les techniques habituelles.

— D'une part, sur un milieu de Knop dilué de son volume d'eau et dans lequel une partie ou la totalité du nitrate de calcium est remplacée par du nitrate de strontium afin d'obtenir les concentrations en Ca^{++} et Sr^{++} suivantes :

0	mI Ca^{++}	2,1	mI Sr^{++}
0,5	mI Ca^{++}	1,6	mI Sr^{++}
1	mI Ca^{++}	1,1	mI Sr^{++}

— D'autre part, sur le même milieu, dilué également, et renfermant :

0	mI Ca^{++}
0,5	mI Ca^{++}
1	mI Ca^{++}

Ainsi chaque milieu du premier groupe diffère du second par sa teneur en strontium, ce qui permet d'étudier l'action exercée par cet élément.

Les observations ont été faites deux mois après le repiquage des germinations.

B. — Action du strontium sur la croissance

1) OBSERVATIONS MORPHOLOGIQUES

a) Action du strontium remplaçant totalement le calcium et comparaison avec la carence calcique.

Quand tout le calcium est remplacé par du strontium, on pourrait s'attendre à retrouver sur les plantules les symptômes de la carence calcique (feuillage jaunâtre et nécrose des bourgeons) puisque l'ion Ca^{++} est absent du milieu extérieur. En fait, on ne retrouve aucun des caractères indiqués, mais d'autres provoqués, vraisemblablement, par la présence du strontium. Les plantules restent très petites. Les rares feuilles formées (3 ou 4 au maximum) s'enroulent sur leur face inférieure et sont d'un vert très foncé. Ces plantules meurent en général avant la fin des expériences (Planche VIII B).

b) Action des mélanges strontium-calcium.

Les cultures, ensemencées sur des milieux contenant du strontium, sont moins développées que celles cultivées sur des milieux à même concentration en Ca^{++} mais sans strontium. Cette différence est d'autant plus marquée que la concentration en ions Sr^{++} du milieu est plus élevée et par conséquent la concentration en calcium plus basse (Planche VII). Les feuilles ont tendance encore à s'enrouler vers l'extérieur, mais ces caractéristiques sont d'autant plus atténuées que la concentration en Sr^{++} est plus faible.

2) RÉSULTATS NUMÉRIQUES

Le tableau LVII confirme les observations visuelles. La croissance est toujours plus faible sur les milieux renfermant du strontium. De plus, la chute de croissance est proportionnelle à la concentration du strontium dans le milieu. Cette différence est surtout caractéristique quand les calculs sont faits sur les poids frais. Ceci provient du fait que le strontium diminue en même temps que la teneur en eau des cultures.

TABLEAU LVII

Effet du strontium sur le poids frais et sec du *Parietaria officinalis*
et sur la teneur en eau des tissus

(Moyenne sur les valeurs trouvées au cours de trois expériences successives comportant chacune 20 plants de Pariétaires pris deux mois après le repiquage)

Concentration en Ca^{++} et Sr^{++} des milieux de culture	Poids d'un plant (en mg)		Teneur en eau des tissus (en % du poids frais)	Diminution de poids due à la présence de Sr^{++} (en %)	
	Frais	Sec		Frais	Sec
0 mI Ca^{++}	79,9 ± 8,4	9,3 ± 2,0	88,3	100	100
0 mI Ca^{++} et 2,1 mI Sr^{++}	Mort avant la fin des expériences				
0,5 mI Ca^{++}	170,3 ± 28,5	16,7 ± 1,8	90,4	47	34,1
0,5 mI Ca^{++} et 1,6 mI Sr^{++}	90,2 ± 12,1	11,0 ± 2,6	87,4		
1 mI Ca^{++}	188,0 ± 16,3	18,0 ± 2,4	90,4	35,8	31,7
1 mI Ca^{++} et 1,1 mI Sr^{++}	120,6 ± 15,6	12,3 ± 1,8	89,6		

Remarque.

Nous avons vu que l'ion Sr^{++} modifie la teinte générale des feuilles qui deviennent d'un vert sombre. Cette coloration est-elle provoquée par un nouveau pigment ou y a-t-il changement dans la proportion de ceux déjà existants ? Nous avons extrait les pigments des chloroplastes à l'aide d'acétone, afin d'essayer de déterminer d'où provient cette différence de coloration. Les chromatographies faites, selon la méthode de SIGNOL et coll. (1955), sur un même poids (1 gramme ici) de feuilles de Pariétaires pro-

venant de plants cultivés sur des milieux à 0,5 mI Ca^{++} (témoin) et 0,5 mI Ca^{++} , 1,6 mI Sr^{++} montrent que :

1°) La nature des pigments est la même dans les deux séries de feuilles.

2°) Les Pariétaires cultivées sur les milieux contenant du strontium renferment plus de chlorophylle a et b que les témoins. Notons, cependant, que cette appréciation repose sur les observations de SIRONVAL (1953) et de SIGNOL et coll. (1955) qui estiment que les chlorophylles sont soumises à une absorption vraie sur le papier chromatographique et que leur Rf augmente avec leur concentration. Or, le Rf, dans le cas des Pariétaires cultivées sur strontium, est plus grand que dans le cas des témoins, les taches sont également plus importantes. Ces résultats sont peut-être la conséquence de l'action du strontium sur la croissance des plantes, la multiplication des chloroplastes étant moins fortement inhibée que la multiplication cellulaire.

C. — Action du strontium sur les cystolithes

Les moyens dont nous disposons ne nous ont malheureusement pas permis de faire des dosages comparatifs des ions Sr^{++} et Ca^{++} dans les tissus. En effet, ces deux éléments donnent des précipités insolubles sous l'action de l'oxalate d'ammonium. De plus, des essais faits avec des sels de strontium nous ont permis de constater que l'ion Sr^{++} se comporte comme le calcium lors des dosages complexométriques. Nous avons dû nous contenter des méthodes microchimiques et spectrographiques. Celles-ci ont apporté un certain nombre de résultats qui semblent intéressants.

Les cultures sur strontium seul mourant avant la fin des expériences, nous avons dû faire une étude comparative des cystolithes de Pariétaires provenant de milieux à 0,5 et 1 mI Ca^{++} avec ou sans strontium.

1) OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES

Si l'on examine des feuilles d'âge correspondant de Pariétaires cultivées sur milieu à 0,5 mI Ca^{++} , avec ou sans strontium, on est frappé par le fait que les cystolithes les plus volumineux sont ceux des plants ayant poussé sur les milieux additionnés de strontium. Ceci est surtout visible dans les jeunes feuilles. La figure 39 montre, en effet, que les cystolithes d'une feuille F_3 sont encore à l'état de pédicelles lorsque les plantes proviennent de milieu sans strontium, alors qu'ils sont déjà recouverts d'une pellicule disparaissant par action de l'acide acétique quand le strontium est présent dans le milieu de culture. Pour les feuilles adultes, la différence est moins nette. Elle est moins nette également dans les milieux à 1 mI Ca^{++} que dans ceux à 0,5 mI Ca^{++} .

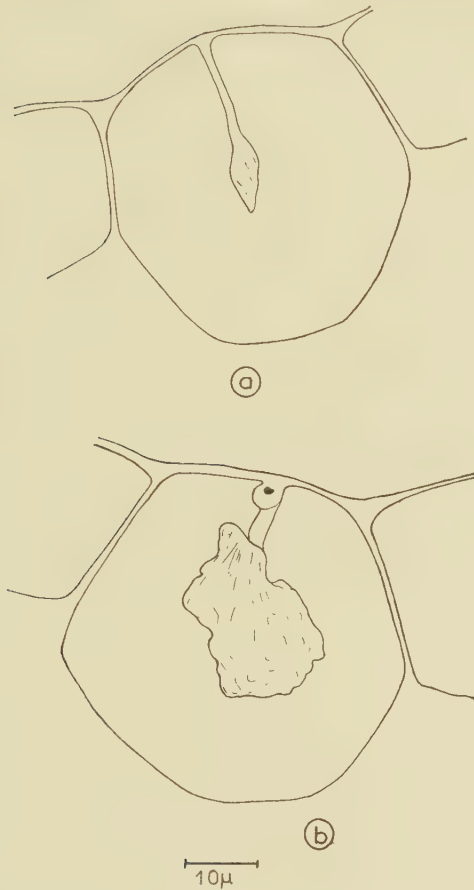


Fig. 39. — Cystolithes de la pointe d'une feuille F_2 de Pariétaire cultivée :

a) Sur du Knop à 0,5 ml Ca^{++} (cystolithe à l'état de pédicelle).

b) Sur du Knop à 0,5 ml Ca^{++} 1,6 ml Sr^{++} (cystolithe comprenant une trame bien développée recouverte d'une mince couche de carbonate de calcium).

On voit ici que les cystolithes sont plus développés dans les Pariétaires cultivées sur un milieu renfermant du strontium. (Dessins d'après photo.)

Deux hypothèses peuvent donc être envisagées :

1°) La présence du strontium a accéléré l'absorption du calcium par la plante. De ce fait, les cystolithes se calcifient plus rapidement que dans le cas des Pariétaires cultivées sur des milieux de même concentration en ions Ca^{++} mais sans strontium.

2°) Le strontium a remplacé le calcium, et les cystolithes renferment une forte proportion de cet ion précipité sous forme de carbonate.

Les méthodes complexométriques ne pouvant être utilisées, comme nous l'avons vu, seules des expériences microchimiques et les méthodes spectrographiques ont pu nous permettre d'étudier le mécanisme d'action du strontium.

2) TEST MICROCHIMIQUE

Le réactif utilisé ici est le rhodizonate de sodium qui donne, nous l'avons rappelé, en présence de strontium et de baryum, un précipité rouge en milieu neutre. Ce précipité disparaît par action de l'acide chlorhydrique dans le cas du strontium.

Les essais ont été faits sur des cystolithes isolés par grattage. Les résultats obtenus montrent que :

1°) Les cystolithes des Pariétaires cultivées sur les milieux contenant du strontium donnent, dans certains cas, les réactions du strontium. Cependant, ces réactions ne sont pas toujours positives, sans doute parce que les solutions sont parfois à la concentration limite détectable.

2°) Les cystolithes des plants cultivés sur des milieux sans strontium ne donnent jamais de précipité avec le rhodizonate.

3) ANALYSE SPECTROGRAPHIQUE

Les méthodes microchimiques n'ayant pas apporté de résultats constants, des spectres d'arc ont été examinés par M^{lle} LAGRANGE (1). Ces spectres, étudiés dans la région comprise entre 2300 et 5800 Å, ont été faits sur des cystolithes extraits de plantes cultivées sur des milieux à 0,5 mI Ca^{++} - 1,6 mI Sr^{++} et 0,5 mI Ca^{++} sans strontium. Par suite du procédé d'extraction des cystolithes (grattage des feuilles et décantation dans l'alcool absolu), ce sont les plus volumineux qui sont analysés dans les deux cas.

Des résultats semi-quantitatifs obtenus (tableau LVIII) on peut déduire que :

1°) Les impuretés, dans le cas présent, sont exactement les mêmes, et dans les mêmes proportions, que dans les analyses précédentes.

2°) Le strontium, présent en faible proportion dans les cystolithes témoins, est en beaucoup plus grande quantité dans les cystolithes des plantes cultivées sur un milieu contenant cet élément.

Cette quantité n'a pu être appréciée et les dosages sont tout à fait approximatifs. En effet, toutes les raies du strontium, même les moins sensibles,

(1) Laboratoire d'Hydrologie.

TABLEAU LVIII

Analyse spectrographique des cystolithes du *Parietaria officinalis*
 Les valeurs mentionnées pour chaque élément indiquent leur proportion en %
 de la masse des cystolithes

Désignation des ions	Milieux	
	0,5mI Ca	0,5mI Ca et 1,6mI Sr
Ca	2 à 5	2 à 5
Mg	1 à 5	1 à 5
Si	0,8 à 1	0,8 à 1
Al	0,1 à 1	0,01 à 0,1
Sr	0,1 à 1	sup. à 3
Fe	0,04	0,04
Ti	inf. à 0,01	0,001
Pb	0,4	inf. à 0,01
Mn	0,01 à 0,1	0,01 à 0,1
Cu	0,001 à 0,01	0,001 à 0,01
Sn	0,07	0,07

étant visibles sur les spectres, ceci permet d'affirmer que sa concentration est certainement supérieure à 3 %, mais elle peut naturellement être beaucoup plus forte. Le principal, ici, est de pouvoir montrer que les cystolithes des Pariétaires peuvent capter une partie des ions Sr^{++} puisés dans le sol.

3°) Les ions tels que Al^{+++} , Pb^{++} , Ti^{++} sont moins abondants dans les cystolithes des Pariétaires cultivées sur les milieux contenant du strontium que dans les autres. Il est possible :

— que le strontium freine certaines réactions dans lesquelles interviennent ces ions ;

— qu'il y ait, du point de vue de la perméabilité des poils absorbants, des interactions entre ces ions et le strontium.

— Mais il se peut aussi que les sels employés, et qualifiés de « rigoureusement purs », renferment des impuretés, en plus ou moins grande quantité, absorbées par les plantes et captées par les cystolithes.

4°) Le strontium ne semble pas avoir d'action sur la quantité de calcium des cystolithes, mais les spectres permettent cependant de voir que, dans les milieux faiblement concentrés en calcium, l'ion Ca^{++} n'est pas l'élément essentiel des cystolithes. Sa concentration ici est approximativement la même que celle du magnésium.

4) COMPORTEMENT OPTIQUE ET STRUCTURE AUX RAYONS X

Tous les examens faits au cours de ces expériences ont montré que, dans les cystolithes des Pariétaires cultivées sur les milieux contenant du strontium en plus du calcium, l'éventuelle biréfringence du SrCO_3 n'est pas décelable. De même, les raies caractéristiques des corps cristallisés n'apparaissent pas sur les diagrammes de rayons X.

Il reste donc à rechercher une autre méthode pour savoir si le strontium, présent vraisemblablement sous forme de carbonate, précipite à l'état cryptocristallin ou à l'état amorphe. Cette dernière forme de carbonate de strontium n'a jamais, à notre connaissance, été mentionnée dans la littérature.

II. — ESSAIS COMPLEMENTAIRES

Dans les expériences précédentes, les cystolithes renferment à la fois du CaCO_3 et du SrCO_3 , l'un pouvant gêner l'observation de l'autre. Si, au contraire, on observe des cystolithes de Pariétaires ayant poussé sur milieu uniquement composé de strontium, l'observation optique peut être beaucoup plus facile. Malheureusement, dans ce cas, les plants meurent très vite. Mais leurs cotylédons renferment déjà des cystolithes très bien développés que nous avons comparés à ceux de Pariétaires cultivées sur du liquide de Knop à 0 mI Ca^{++} sans strontium, ou sur le milieu de Knop ordinairement utilisé.

Des coupes faites sur les cotylédons de plantules âgées de 13 jours montrent que :

1°) Dans les cotylédons des Pariétaires cultivées sur du milieu de Knop sans calcium, les cystolithes sont réduits à l'état de pédicelles sans aucune minéralisation.

2°) Les Pariétaires cultivées sur le liquide de Knop ont des cystolithes cotylédonaire minéralisés et sans aucune biréfringence.

3°) Enfin, les cystolithes cotylédonaire des Pariétaires cultivées sur les milieux à 0 mI Ca^{++} -2,1 mI Sr^{++} sont en général plus volumineux que les précédents (Planche VII Ca et Cb). Leur substance minérale disparaît avec effervescence, comme les carbonates, par action de l'acide acétique. La présence de l'ion Sr^{++} dans le milieu de culture fait penser que ce doit être du carbonate de strontium. De plus, un examen entre nicols croisés montre que les cystolithes sont fortement biréfringents (Planche VIII Cc). Cette biréfringence vient bien de la partie minérale des cystolithes, car elle diminue très fortement lorsqu'on élimine le carbonate par l'acide acétique.

On peut donc conclure que des Pariétaires cultivées sur un milieu où le calcium est remplacé par du strontium sont capables de posséder des cystolithes recouverts de carbonate de strontium cristallisé. Et si, dans les cas précédemment étudiés, les cystolithes n'étaient pas biréfringents, c'est vraisemblablement parce que le carbonate de strontium se trouvait sous forme cristalline, mélangée au carbonate de calcium amorphe, et en quantité insuffisante pour être décelée entre nicols croisés.

III. — DISCUSSION

Les expériences qui viennent d'être relatées montrent que :

— Le strontium ne peut pas être utilisé en remplacement de l'ion calcium par les Pariétaires. Il inhibe presque totalement la croissance et provoque rapidement la mort.

— La substitution partielle de l'ion Sr^{++} à l'ion Ca^{++} provoque toujours une inhibition de croissance. Cette inhibition est d'autant plus forte que la substitution est plus importante. Comme nos expériences étaient conduites de telle sorte que la teneur du milieu en Sr^{++} augmentant, celle de Ca^{++} diminuait, il serait intéressant, par la suite, de voir si l'action inhibitrice vient vraiment du strontium lui-même ou de la présence, en plus ou moins grande quantité, de calcium agissant sur l'entrée de l'ion Sr^{++} dans la plante. RUSSELL et coll. indiquent, en effet, que la présence de calcium dans le milieu diminue l'entrée du strontium dans les racines (1958).

— Le résultat le plus intéressant concerne l'action du strontium sur les cystolithes. En effet, les Pariétaires cultivées sur des milieux renfermant cet élément le fixent sur leurs cystolithes en quantité importante. Ce phénomène peut être interprété de deux façons différentes :

a) La plante accumule sur ses cystolithes des substances toxiques pour elle.

b) La plante ne différencie pas le calcium et le strontium qui sont deux éléments chimiquement voisins et les accumule indifféremment sur ses cystolithes.

Un certain nombre d'arguments peuvent être apportés en faveur de la première interprétation. Tout d'abord, l'analyse des cystolithes révèle des traces d'un certain nombre d'éléments Al, Pb, Mn, Fe, Sn, Cu, Ti qui ont dû être absorbés par les racines et rejetés sur les cystolithes comme déchets. De plus, lorsqu'on a étudié l'action des diverses concentrations de Ca^{++} sur les cystolithes, on a vu que la plante se débarrasse d'une partie du calcium en excès sur ces formations. Enfin, le fait que les cystolithes des cotylédons de Pariétaires cultivées sur un milieu à 0 mI Ca^{++} - 2,1 mI Sr^{++} soient

plus volumineux que ceux des Pariétaires cultivées sur liquide de Knop à 2,1 mI Ca^{++} sans strontium permet de penser que les cystolithes jouent là un rôle antitoxique, le strontium plus nuisible que le calcium étant éliminé plus rapidement.

La deuxième hypothèse est suggérée par les observations de BAUER et coll. (1955) sur les Animaux. Ces auteurs montrent, en effet, qu'il y a une absorption préférentielle du calcium par rapport au strontium au niveau du tractus intestinal, mais que le squelette est apparemment incapable de distinguer entre ces deux éléments. Dans les plantes, également, BOWEN et coll. signalent qu'une faible partie du strontium extérieur (0,6 %) est absorbée par les racines (1956). Le fait de pouvoir trouver des cystolithes exclusivement constitués de carbonate de strontium ou d'un mélange de CaCO_3 et SrCO_3 , permet de penser qu'ils sont incapables de différencier le calcium du strontium, et c'est sans doute la raison pour laquelle les spectres indiquent toujours la présence de cet ion dans les cystolithes.

D'autres expériences s'imposeraient pour pouvoir choisir définitivement entre ces deux hypothèses. Ainsi, il serait intéressant d'étudier l'action comparative du strontium sur la croissance des Végétaux renfermant ou non les cystolithes, pour déterminer si les cystolithes jouent ou non un rôle antitoxique vis-à-vis de cet élément.

CHAPITRE IV

POSSIBILITE DE REUTILISATION DU CALCIUM DES CYSTOLITHES

Le calcaire des cystolithes n'est pas stable et divers auteurs ont déjà observé sa disparition lorsque les plantes sont maintenues à l'obscurité. Nous avons nous-même vérifié ce fait sur plusieurs *Ficus* (*elastica*, *bengalensis*) et sur la Pariétaire. Diverses interprétations de ce phénomène peuvent être données. On peut supposer que le CO_2 de la respiration, en s'accumulant dans les tissus, dissout le CaCO_3 par une simple réaction chimique (très souvent nous avons employé l'eau chargée de CO_2 pour produire des décalcifications très graduelles). C'est l'hypothèse émise par RABIGER qui suppose que le CaCO_3 passerait à l'état de bicarbonate se décomposant à la lumière pour redonner le CO_2 qui jouerait ensuite un rôle dans la photosynthèse (1951). Nous n'avons pas étudié ce problème, mais retenu simplement le fait que le CaCO_3 des cystolithes peut disparaître. Et nous nous sommes alors demandé si l'ion calcium du CaCO_3 ne pourrait pas être repris dans le métabolisme de la plante lorsque celle-ci est privée de cet ion dans son alimentation.

I. — EXPOSE DES EXPERIENCES

Des Pariétaires, mises en culture selon les techniques ordinaires, sont restées, sur de la silice imbibée de liquide de Knop dilué, un temps variable suivant les expériences mais suffisant pour assurer une calcification très nette des cystolithes. A ce moment, les plantes ont été séparées en trois lots :

— Un premier lot a été sacrifié afin de doser le contenu en calcium des tissus.

— Un second est resté, dans une première série d'expériences, sur la même silice imbibée de liquide de Knop dilué, mais, dans une deuxième, il a été repiqué sur de la nouvelle silice également imbibée de milieu témoin.

— Un troisième a été repiqué mais le milieu de culture utilisé était du milieu témoin dépourvu de calcium, le nitrate de calcium étant remplacé par du nitrate de sodium.

Les deux derniers lots sont restés un mois sur leur milieu respectif avant d'être sacrifiés pour les recherches ultérieures. Notons que chaque lot comprend l'ensemble des plants d'une jardinière, soit environ une vingtaine d'individus.

Dans trois séries d'expériences, les plantes avaient respectivement au moment de la mise en carence calcique :

1 mois (1) (feuilles toutes en voie de croissance) ;

1 mois 1/2 (1) (feuilles toutes en voie de croissance mais dont les cystolithes sont plus calcifiées) ;

2 mois (1) (feuilles inférieures adultes à cystolithes ayant atteint leur maximum de calcification).

Les plants, dans ces derniers essais, sont âgés de 3 mois à la fin des expériences, âge limite pour lequel la croissance se fait sans perte de feuilles. Les mises en carence calcique à des âges différents se justifient par le fait que, dans les plantes mises à l'obscurité, les cystolithes des feuilles supérieures se décalcifient rapidement (6 à 7 jours selon les Végétaux expérimentés). Ceux des feuilles adultes inférieures semblent, au contraire, subir peu ou pas d'altération. Le degré de calcification des cystolithes semble donc, dans ce cas, être un facteur déterminant de la perte du calcium des cystolithes, et l'on pouvait penser qu'il en était de même dans le cas d'une carence calcique.

II. — RESULTATS

A. — Etude de la croissance des Pariétaires

Dans toutes les expériences entreprises, les plants repiqués sur un milieu de Knop sans calcium présentent, deux à trois semaines après le repiquage, des nécroses des bourgeons caractéristiques des carences calciques. De plus, l'examen du tableau LIX montre que, dans la première expérience, les plants carencés secondairement (3^e lot) sont moins développés que les témoins (2^e lot). Cependant, si l'on compare leur poids à celui qu'ils avaient au moment de la mise en carence calcique (poids moyen donné par les plants du premier lot), on voit que leur croissance est ralentie, mais non stoppée, par un séjour sur un milieu sans calcium.

(1) Non compté le temps de germination.

TABLEAU LIX

Evolution du poids des Pariétaires avec leur âge
et le milieu dans lequel elles se trouvent
(Poids en mg, moyennes sur 20 plants)

Désignation des lots	Température de la pièce de culture durant les expériences					
	25° (1ère expérience)			20° (2ème expérience)		
	Poids d'un plant		Eau en % du poids frais	Poids d'un plant		Eau en % du poids frais
	Sec	Frais		Sec	Frais	
1er lot : 1 mois sur mi-lieu de Knop	9,4	85,7	89,0	5,7	58,0	90,9
2ème lot : 2 mois sur mi-lieu de Knop (témoins)	35,2	282,8	87,6	23,4	165,9	85,9
3ème lot : 1 mois sur mi-lieu de Knop et 1 mois sur mi-lieu de Knop sans Ca ⁺⁺	27,4	254,8	89,3	12,0	113,3	89,4
1er lot : 1 mois $\frac{1}{2}$ sur mi-lieu de Knop	22,2	189,2	88,3	13,2	167,1	92,1
2ème lot : 2 mois $\frac{1}{2}$ sur mi-lieu de Knop (témoins)	54,2	448,8	88,0	38,0	256,5	85,2
3ème lot : 1 mois $\frac{1}{2}$ sur mi-lieu de Knop et 1 mois sur mi-lieu de Knop sans Ca ⁺⁺	26,7	245,4	89,1	39,5	310,1	87,3
1er lot : 2 mois sur mi-lieu de Knop	29,6	274,8	89,3	21,6	190,6	88,7
2ème lot : 3 mois sur mi-lieu de Knop (témoins)				51,3	312,8	83,7
3ème lot : 2 mois sur mi-lieu de Knop et 1 mois sur mi-lieu de Knop sans Ca ⁺⁺	36,5	305,5	88,1	48,5	360,2	86,6

Les résultats pondéraux sont un peu différents entre la première expérience et la deuxième. En effet, on remarquera que la diminution de croissance enregistrée pour les troisièmes lots dans la première expérience, et qu'on serait tenté d'attribuer à la carence calcique, est en partie due au repiquage des cultures. Dans la deuxième expérience, en effet, où les témoins (2° lot) sont repiqués de la même façon que tous les plants mis sur milieu carencé en calcium, la différence devient très minime ou même disparaît complètement.

Le même tableau montre, en outre, que la teneur en eau des tissus, contrairement à ce que nous avons trouvé dans l'étude des carences calciques

(cf. tableau XXXV), a tendance à être plus forte dans les troisièmes lots dépourvus de calcium que dans les seconds restés sur milieu de Knop.

B. — Etude des différentes formes de calcium

1) OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES

Ces dernières ont été faites sur les feuilles les plus âgées des plants de 1, 1 1/2 et 2 mois puis, sur ces mêmes plants, 1 mois plus tard, après la mise en carence calcique.

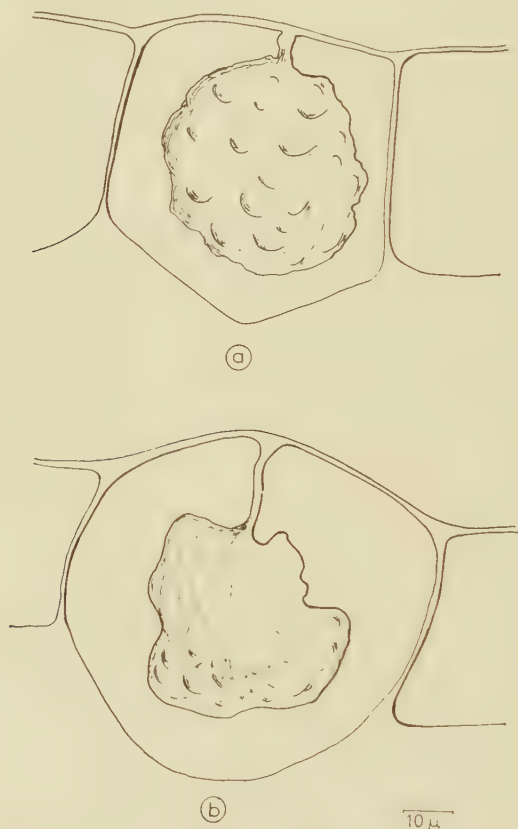


Fig. 40. — Cystolithes de *Pariétaires* pris sur la dernière feuille :

a) D'un plant de 2 mois cultivé sur milieu de Knop.

b) D'un plant de 3 mois cultivé 2 mois sur milieu de Knop, puis 1 mois sur le même milieu sans calcium.

On voit que, dans le deuxième cas, les cystolithes se sont décalcifiés durant la mise en carence calcique.

Dans tous les cas, les cystolithes sont fortement décalcifiés (fig. 40). Or, dans les plants de 2 mois, les cystolithes avaient déjà atteint leur taille adulte avant la mise en carence calcique.

On peut donc affirmer que le CaCO_3 des cystolithes est repris par la Pariétaire lorsque le calcium fait défaut dans le milieu extérieur, et ceci quel que soit le degré de calcification au début des expériences.

De plus, les essais de plasmolyse montrent que la cellule demeure vivante pendant la décalcification.

2) DOSAGES

a) *Taux des différentes formes de calcium.*

Les résultats mentionnés sur le tableau LX sont rapportés à 1 gramme de substance sèche.

— *Calcium soluble.*

Il a tendance à diminuer avec l'âge des Pariétaires, comme nous l'avons déjà vu au cours des précédents dosages (cf. tableau XXVI). Ce phénomène est fortement accentué dans les Pariétaires mises 1 mois sur milieu de Knop carencé en calcium.

— *Calcium des cystolithes.*

Il augmente avec l'âge dans les Pariétaires cultivées sur milieu témoin. Ceci vérifie aussi nos premiers résultats (cf. tableau XXVI). Cependant, dans la deuxième expérience où les plants sont repiqués avant d'être mis sur un nouveau milieu de Knop pour qu'ils soient exactement dans les mêmes conditions que les plants carencés, cette augmentation n'existe pas dans les Végétaux de 2 mois 1/2 et 3 mois. Ceci est peut-être dû au fait que la transplantation modifie un moment le métabolisme des Pariétaires qui doivent s'accoutumer à leur nouveau milieu. Remarquons, en effet, que la croissance, elle aussi, est modifiée par le repiquage.

Dans tous les cas, le taux des carbonates diminue fortement dans les plants transportés sur les milieux en carence calcique.

— *Calcium des oxalates.*

Excepté pour les Végétaux mis 2 mois sur milieu de Knop sans calcium, le taux de l'oxalate de calcium augmente avec l'âge des Pariétaires. Cette augmentation est toutefois fortement ralentie dans les milieux sans Ca.

TABLEAU LX

Taux des différentes formes de calcium contenues
dans 1 gramme de substance sèche (en mg)

Désignation des lots	Température de la pièce de culture durant les expériences							
	25° (1ère expérience)				20° (2ème expérience)			
	Taux du Ca ⁺⁺ dans les tissus secs (en mg/g)							
	Ca soluble	Ca des carb.	Ca des ox.	Ca total	Ca soluble	Ca des carb.	Ca des ox.	Ca total
1er lot : 1 mois sur mi-lieu de Knop	11	11	Ind.	22	17	5	Ind.	22
2ème lot : 2 mois sur mi-lieu de Knop (témoins)	10	12	2	24	9	10	1	20
3ème lot : 1 mois sur mi-lieu de Knop et 1 mois sur mi-lieu de Knop sans Ca ⁺⁺	3	2	1	6	5	2	1	8
1er lot : 1 mois $\frac{1}{2}$ sur mi-lieu de Knop	11	12	1	24	11	9	Ind.	20
2ème lot : 2 mois $\frac{1}{2}$ sur mi-lieu de Knop (témoins)	8	14	4	26	9	9	2	20
3ème lot : 1 mois $\frac{1}{2}$ sur mi-lieu de Knop et 1 mois sur mi-lieu de Knop sans Ca ⁺⁺	5	7	2	14	2	2	1	5
1er lot : 2 mois sur mi-lieu de Knop	12	12	3	27	10	13	2	25
2ème lot : 3 mois sur mi-lieu de Knop (témoins)					8	10	2	20
3ème lot : 2 mois sur mi-lieu de Knop et 1 mois sur mi-lieu de Knop sans Ca ⁺⁺	6	5	3	14	2	4	1	7

— *Calcium total.*

Il augmente avec l'âge dans les témoins non repiqués. Il a tendance à diminuer dans les Pariétaires repiquées avant d'être mises sur un nouveau milieu témoin, mais cette diminution n'est en rien comparable à la forte chute du taux du Ca⁺⁺ total observée dans les plants mis en carence calcique.

Remarque : Dans tous les cas, les calculs faits par rapport aux poids frais sont comparables à ceux obtenus par rapport aux poids secs.

D'après ces résultats, on est tenté de penser que le manque de calcium dans le milieu extérieur a provoqué une mobilisation du calcium soluble et du calcium des cystolithes. La concentration des oxalates, au contraire, n'est absolument pas fonction de cet ion dans le milieu extérieur (les résultats obtenus sur les plants âgés seront expliqués plus loin).

Le mode de calcul du taux de calcium est cependant bien critiquable. En effet, on se souvient que la croissance a été ralentie, mais non stoppée, par un séjour sur un milieu sans calcium. Ainsi donc, même si le calcium n'est pas réutilisé, la concentration par unité de poids des différentes formes de calcium peut diminuer.

Aussi nous a-t-il paru nécessaire de rapporter également les quantités d'ions Ca^{++} trouvées au cours des dosages, non plus au poids sec ou frais

TABLEAU LXI

Masse des différentes formes de calcium contenues
dans 100 plants de Pariétaires (en mg)

Désignation des lots	Température de la pièce de culture durant les expériences							
	25° (1ère expérience)				20° (2ème expérience)			
	Masse des différentes formes de Ca++contenue dans 100 plants(mg)							
	Ca soluble	Ca des carb.	Ca des ox.	Ca total	Ca soluble	Ca des carb.	Ca des ox.	Ca total
1er lot : 1 mois sur mi-lieu de Knop	10,7	10,0	Ind.	20,7	10,0	3,0	Ind.	13,0
2ème lot : 2 mois sur mi-lieu de Knop (témoins)	37,3	44,2	6,2	87,7	22,1	23,6	2,5	48,2
3ème lot : 1 mois sur mi-lieu de Knop et 1 mois sur mi-lieu de Knop sans Ca++	9,4	6,3	2,9	18,6	5,7	2,1	1,2	9,0
1er lot : 1 mois ½ sur mi-lieu de Knop	25,2	25,8	2,0	53,0	14,5	11,5	Ind.	26,0
2ème lot : 2 mois ½ sur mi-lieu de Knop (témoins)	44,2	77,1	20,7	142,0	33,5	33,0	7,0	73,5
3ème lot : 1 mois ½ sur mi-lieu de Knop et 1 mois sur mi-lieu de Knop sans Ca++	13,7	15,0	5,5	34,2	10,0	7,5	4,0	21,5
1er lot : 2 mois sur mi-lieu de Knop	35,2	36,4	9,4	81,0	21,0	27,3	3,5	51,8
2ème lot : 3 mois sur mi-lieu de Knop (témoins)					42,7	50,5	11,1	104,3
3ème lot : 2 mois sur mi-lieu de Knop et 1 mois sur mi-lieu de Knop sans Ca++	23,1	20,0	10,0	53,1	10,5	20,0	5,5	36,0

du Végétal, mais aux individus eux-mêmes. En effet, après la suppression du calcium, dans le milieu extérieur, les plantes ne peuvent plus puiser cet ion. Si, donc, l'une des formes du calcium n'est pas réutilisée, son poids doit au moins rester le même dans les premiers et les troisièmes lots, et il ne doit diminuer que dans le cas où le calcium est repris.

b) *Masse de calcium absorbée par les différents plants.*

Les résultats mentionnés dans le tableau LXI ont été rapportés à 100 individus. Ils montrent que :

— Le calcium soluble et le calcium des cystolithes sont repris quel que soit l'âge de la plante et par conséquent son degré de calcification au moment de la mise en carence calcique.

— Par contre, les oxalates continuent à se former même en l'absence de calcium dans le milieu extérieur, surtout lorsque les plantes sont jeunes.

— Le calcium total est toujours plus faible dans les plants carencés que dans les témoins. Il est plus faible également à la fin des expériences (3^e lot) qu'au moment de la mise en carence calcique (1^{er} lot).

III. — DISCUSSION

Les études sur la croissance des Pariétaires montrent que le manque de calcium a peu d'action sur la richesse en eau des tissus. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par DAVIS dans ses travaux sur la nutrition des arbres fruitiers (1932). Ce même résultat avait été obtenu dans les études sur la carence calcique. Cependant, le manque de calcium, ici, fait légèrement augmenter le pourcentage d'eau, alors qu'il diminuait dans les expériences de carences. On peut expliquer cette anomalie de deux façons. Tout d'abord, dans les expériences de réutilisation du calcium, la carence n'est pas totale du fait que les plants végètent une partie de leur existence sur du milieu de Knop. De plus, DAY trouve qu'une diminution du taux du calcium dans le milieu extérieur diminue le pourcentage d'eau des tiges, mais augmente celui des racines (1935). Ainsi un équilibre doit se faire dans la plante entière, d'où une action faible au total, et qui peut varier dans un sens ou dans l'autre selon la richesse du Végétal en tiges ou en racines.

L'examen des variations de la masse des différentes formes de calcium dans les plantes confirme les observations microscopiques, et permet d'affirmer que le calcium des cystolithes ne se trouve pas dans la plante sous forme immuable, mais peut être en partie réutilisé en cas de carence calcique : les formes insolubles de calcium ne sont donc pas toutes soustraites

à la réutilisation du calcium contrairement à l'avis d'ABUTALYBOV (1955). Il semble bien, par contre, que l'oxalate peut être considéré de ce point de vue comme une substance de déchet, ce qui est en accord avec les expériences de AMAR (1903 *a* et *b*). Mais cet oxalate est peut-être réutilisé dans d'autres conditions. Ainsi, CARLES et ASSAILLY pensent qu'il y a un rapport entre la teneur des tissus en oxalate de chaux et en amidon (1954). SERGEEV et coll. admettent également que l'oxalate, présent dans les bourgeons à fleurs, représente une substance de réserve utilisée pour former de l'amidon (1959). Dans nos expériences, l'augmentation du taux de cet oxalate prouve un transit du calcium, contrairement à l'avis d'un grand nombre d'auteurs qui pensent que cet ion, une fois déposé dans les cellules, ne subit pas de transport rétrograde (MASON et coll., 1931 ; BLEDSOE et coll., 1949 ; BIDDULPH et coll., 1953, 1954, 1958 ; SWANSON et coll., 1953 ; TUKEY et coll., 1955 ; PETERBURSKIJ, 1955 ; BUKOVAC et coll., 1956, 1957 ; KESSLER et coll., 1957, 1958 ; WITTVET et coll., 1959). Le fait qu'au bout d'un certain temps, trois semaines environ dans nos expériences, nous retrouvions les symptômes de la carence calcique prouve, cependant, que cette mobilité est faible, ce qui est en accord avec les travaux de BIDDULPH et coll. (1959) ; WILLIAMS (1955), FERRELI et coll. (1956), LAUSCH (1958).

On remarquera, dans le tableau LXI, que le calcium total des premiers lots ne se retrouve pas dans les troisièmes lots des expériences. Cette diminution provient surtout du calcium soluble dans le nitrate de sodium. Probablement, le procédé d'extraction de celui-ci ne permet-il pas de doser la partie du calcium qui serait fortement liée soit au protoplasme, soit aux membranes adultes. Et l'on est en droit de penser que le calcium des cystolithes contribue à la formation de ces composés dans les plantes carencées en ions Ca^{++} . Une autre partie est sans doute utilisée pour neutraliser l'ion oxalique au fur et à mesure de sa formation, car les oxalates semblent se former, non en fonction de la concentration du calcium dans le milieu extérieur, mais en fonction des ions oxaliques libres synthétisés dans le métabolisme général. Il faut, en effet, remarquer que l'ion oxalique n'existe que sous forme d'oxalate précipité, les oxalates solubles n'ayant pas pu être mis en évidence comme on s'en souvient.

— En comparant les expériences effectuées à 20 et 25°, on constate que la température a une action considérable sur la quantité de calcium absorbée par chaque individu. La masse absorbée est plus faible à 20° qu'à 25°.

Trois causes peuvent être envisagées pour justifier cette action déjà mentionnée par plusieurs auteurs (ZURBICKIJ et coll., 1954 ; SMITH et coll., 1956 ; STOLKOVSKI, 1957) :

a) La température modifie directement la vitesse de pénétration du calcium dans les cellules.

b) La masse du calcium absorbée varie en fonction de la croissance. Plus les plantes sont développées (et elles le sont plus à 25° qu'à 20°) et plus le calcium est absorbé, sans que son taux dans les tissus augmente obligatoirement.

c) L'absorption est liée en grande partie à la transpiration des plantes (MASON et coll., 1931 ; FREELAND, 1936, 1937 ; WRIGHT, 1939 ; PHILLIS et coll., 1940 ; MICHAEL et coll., 1951 ; BROUWER, 1953 *a* et *b*, 1954, 1956 ; HYLMÖ, 1953, 1955, 1958 ; RUSSELL et coll., 1958, 1959).

Si l'on compare les premiers lots entre eux (les seconds, en effet, ne sont pas dans les deux expériences dans des conditions identiques), on voit que le taux de calcium total (tabl. LX) et la masse totale absorbée dans les plants de 1 mois 1/2 et 2 mois (tabl. LXI) varient dans le même sens. On peut penser qu'il y a là une action directe de la température sur l'absorption des ions au niveau des tissus. Dans les plants de 1 mois, cependant, cette action est beaucoup moins nette, de telle sorte que le taux de calcium fixé est approximativement le même dans les plants entreposés à 20 ou 25°, cependant que la masse absorbée est plus forte à cette dernière température. L'absorption, ici, varierait donc surtout en fonction de la croissance. Enfin, dans tous les cas, la troisième hypothèse peut justifier les faits observés.

Une dernière remarque concernera l'action propre du repiquage sur l'absorption du calcium. Lorsqu'on transporte des pieds de Pariétaires sur un milieu nouveau, identique au précédent, le taux de calcium dans les tissus diminue (cf. tabl. LX). Toutefois, il est clair que cette diminution est considérablement moins forte que dans le cas de carence calcique. Le repiquage provoque une diminution d'absorption du calcium (sans doute par suite des lésions qu'il entraîne), mais non une suppression, et il n'y a, en aucun cas, décalcification des cystolithes. Ce résultat permet de confirmer qu'on ne doit pas imputer au repiquage la perte de CaCO_3 des troisièmes lots mis en carence calcique.

CHAPITRE V

POSSIBILITE D'INTERVENTION D'UNE ENZYME DANS LA CALCIFICATION DES CYSTOLITHES

Les expériences relatées pages 211 et suivantes montrent que la lumière est un facteur indispensable pour la calcification des cystolithes. De même, depuis longtemps, les auteurs avaient remarqué que les cystolithes des Urticacées et des Moracées se décalcifient à l'obscurité. On se souvient que ces observations ont été vérifiées sur le *Ficus bengalensis*, le *Ficus elastica* et le *Parietaria officinalis*. Pour ces Végétaux, 6 à 7 jours suffisent pour que la disparition du CaCO_3 puisse être observée très nettement au microscope. Les données bibliographiques, ainsi que nos propres expériences sur le *Pilea cadieri*, montrent, au contraire, que les Acanthacées, ainsi que les Urticacées à cystolithes allongés, semblent conserver leur calcaire à l'obscurité. Cependant, RABIGER (1951) ayant dosé le calcium soluble et insoluble, dans les plantes éclairées ou non, trouve une diminution du calcium insoluble et une augmentation du calcium soluble dans une Acanthacée, le *Sanchezia parvibracteata*, après vingt-quatre heures d'obscurcissement. Ceci prouverait bien que, là encore, la décalcification intervient à l'obscurité, mais dans les Acanthacées elle serait moins forte que dans les Urticacées et les Moracées, et, de ce fait, invisible par de simples observations microscopiques.

Pour expliquer la disparition du calcium à l'obscurité, RABIGER admet que le CO_2 de la respiration s'accumule dans les cellules. Le gaz, selon lui, pénètre très vite dans les lithocystes « à cause du manque de membrane plasmique, les lithocystes étant des cellules mortes ». En fait, que le CO_2 pénètre dans les lithocystes est une hypothèse que nous pouvons admettre, mais que ce soit parce que ces cellules sont mortes est en complet désaccord avec ce que nous avons toujours observé. Les cystolithes, en effet, s'édifient dans des cellules vivantes. Et même en supposant que dans les stades d'évolution extrême les constituants cellulaires des lithocystes soient détériorés, l'argument de RABIGER ne tiendrait pas, car toutes les expé-

riences faites à l'obscurité (*Ficus elastica*, *Ficus bengalensis*, *Parietaria officinalis*) ont montré que les feuilles jeunes se décalcifient plus rapidement que les feuilles adultes. Or ce sont précisément des feuilles dans lesquelles les lithocystes sont certainement vivants.

De plus, RABIGER dit encore que si un simple équilibre chimique provoque la décalcification des cystolithes, ceci ne peut s'admettre que par un départ des bicarbonates formés, vers l'extérieur des cellules, par le phénomène de guttation. Mais si ce phénomène se produit, le bicarbonate doit se déposer extérieurement en se transformant en carbonate et l'auteur dans ses dosages ne devrait pas trouver de diminution des carbonates.

Aussi nous sommes-nous demandé si un système enzymatique n'interviendrait pas dans la calcification ou la décalcification des cystolithes. Dès lors, seule l'expérimentation pouvait permettre quelque hypothèse à ce sujet. Les moyens d'étude dont nous disposions ne nous ont malheureusement permis d'aborder qu'un des aspects de la question en essayant d'empêcher la décalcification possible des cystolithes.

I. — EXPERIENCES PERMETTANT DE METTRE EN EVIDENCE UNE INTERVENTION ENZYMATIQUE POSSIBLE DANS LES REACTIONS DU CALCIUM DES CYSTOLITHES

Elles ont été faites :

- 1°) sur des broyats de feuilles,
- 2°) sur des coupes de feuilles,
- 3°) sur des feuilles entières.

A. — Expérience sur les broyats de feuilles

Des cystolithes de *Pilea cadieri* ou de *Parietaria officinalis* ont été ajoutés à des broyats de Pariétaire. Des observations microscopiques simples ont permis d'évaluer à tout moment l'état dans lequel se trouvent les cystolithes. Nous avons admis qu'il y a décalcification quand il est possible de distinguer la trame pecto-cellulosique.

1) INFLUENCE DE L'AGE DES FEUILLES UTILISÉES

Dans une première série d'expériences les cystolithes de Pariétaire ou de *Pilea*, ajoutés à des extraits de feuilles, se décalcifiaient plus ou moins sans donner de résultats homogènes. C'est qu'en effet les feuilles étaient prises à n'importe quel niveau sur les plants utilisés. Or, des expé-

riences faites d'une part sur des feuilles jeunes, d'autre part sur des feuilles adultes donnent les résultats suivants :

- Broyats de feuilles jeunes de Pariétaire + cystolithes de Pariétaire ou de *Pilea* —→ les cystolithes se décalcifient en 3 jours.
- Broyats de feuilles adultes de Pariétaire + cystolithes de Pariétaire ou de *Pilea* —→ pas de décalcification.

Aussi avons-nous toujours utilisé, dans la suite de nos expériences, des extraits de feuilles adultes de Pariétaire.

2) INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE

Les résultats obtenus sont les suivants :

- Broyats de feuilles maintenus à la glacière ou à 20-30 et 40° —→ pas de décalcification.
- Broyats de feuilles maintenus 10 minutes à 50-60 et 70° —→ décalcification en 3 jours.
- Broyats de feuilles maintenus 10 minutes à l'autoclave à 120° —→ décalcification en 2 jours.

3) ACTION DES DIFFÉRENTS COMPOSÉS CHIMIQUES

Enfin, en ajoutant aux extraits utilisés, d'une part du Dagénan qui joue le rôle d'inhibiteur d'enzymes comme tous les sulfamides (SUMMER et coll., 1947 ; KREBS, 1948), d'autre part de la peptone qui renforce l'action de certaines diastases, les résultats obtenus sont les suivants :

- Broyats de feuilles adultes + Dagénan —→ décalcification en 3 jours.
- Broyats de feuilles adultes + Peptone —→ pas de décalcification.

Notons que les mêmes expériences faites avec des extraits de *Pilea* donnent les mêmes résultats. Cependant, des extraits de feuilles jeunes ne nous ont pas permis d'observer une décalcification des cystolithes.

B. — Expériences sur coupes

Elles ont été faites sur des coupes de *Ficus elastica* montées entre lame et lamelle dans différents milieux. (L'avantage de ces expériences sur les précédentes est de pouvoir toujours observer les mêmes cystolithes). L'humidité constante a été assurée en mettant ces lames sur un verre de montre, enfermé lui-même dans une boîte de Pétri contenant de l'eau. L'inhibiteur d'enzyme utilisé est ici le cyanure de potassium. Les résultats obtenus sont les suivants :

- Coupes dans l'eau distillée, pH = 5,5 —→ Décalcification en 3 jours.
 - Coupes dans une solution de KCN 0,001 M dans de l'eau distillée, pH = 9,55 —→ Décalcification en 3 jours.
 - Coupes dans du liquide de Knop, pH = 4,95 —→ pas de décalcification.
 - Coupes dans du cyanure de potassium 0,001 M en solution dans du liquide de Knop, pH = 6,55 —→ Décalcification partielle.
- La figure 41 montre l'aspect des cystolithes dans les différents cas.

C. — Expériences sur des feuilles

Des feuilles adultes de *Ficus elastica* ont été prélevées et traitées de la manière suivante :

a) Le pétiole d'une des feuilles trempe dans une solution aqueuse de cyanure de potassium 0,004 M.

b) Une seconde feuille a son pétiole immergé dans de l'eau non dé-ionisée. L'extrémité du limbe est sectionnée suivant la nervure principale. Une des deux moitiés est entourée dans un coton imbibé de cyanure de potassium, l'autre moitié reste libre.

c) Enfin, une troisième feuille est traitée de la même façon que la seconde, mais son pétiole ne trempe dans aucun liquide.

Ces expériences, refaites deux fois, ont permis de noter les résultats suivants :

1°) Les feuilles qui trempent dans le cyanure de potassium ont un aspect caractéristique. Autour de la nervure principale, on distingue un triangle vert-brun indiquant la zone où le cyanure a pénétré. Des échantillons prélevés dans ces régions montrent que les cystolithes sont complètement décalcifiés. Ailleurs les cystolithes sont normaux.

2°) Dans les deuxièmes feuilles, la partie imbibée de cyanure de potassium prend également une teinte vert-brun et, dans cette région, les cystolithes ont commencé à subir une décalcification qui, cependant, n'est pas totale. Ailleurs les cystolithes sont normaux.

3°) Enfin, les feuilles dont le pétiole n'est pas immergé ont jauni, et la décalcification s'est faite en tous les points de la feuille.

Tout ceci pourrait faire croire que c'est le cyanure de potassium lui-même qui provoque la décalcification des cystolithes. Cependant, si l'on met des cystolithes, isolés par greffage, dans une solution pure de cyanure de potassium 0,004 M, on voit qu'une telle solution, même en présence du CO_2 de l'air, n'a aucune action directe sur leur calcaire.

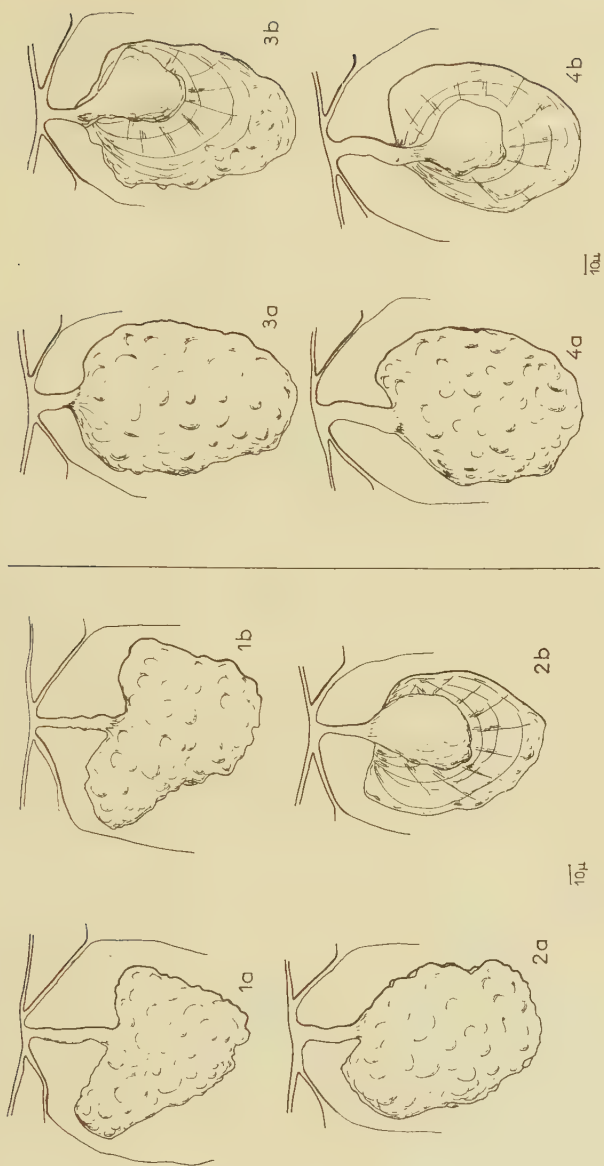


Fig. 41. — Action de différents milieux sur les cystolithes de *Ficus elastica*.

Les expériences ont été faites sur des coupes mises dans les milieux suivants :
 1 : Knop, pH = 4,95 ; 2 : Eau distillée, pH = 5,5 ; 3 : Knop + CNK 0,001 M, pH = 6,5 ; 4 : Eau distillée + CNK 0,001 M, pH = 9,3.

a) Aspect des cystolithes au début des expériences.

b) Aspect des cystolithes 2 jours après les expériences.

Notons que, lorsqu'il y a eu décalcification, celle-ci était visible dès 24 heures après le début des expériences.

Ces expériences nous permettent donc de penser qu'une substance thermolabile intervient dans le maintien du calcaire des cystolithes. Cette substance serait détruite aux environs de 40 à 50°. Le froid, au contraire, ne la détériore pas. Ceci, joint à l'action des sulfamides, comme le Dagenan, ou du cyanure de potassium, ainsi qu'à l'action de la peptone, fait penser à une enzyme.

II. — ENZYME SUSCEPTIBLE D'INTERVENIR DANS LA CALCIFICATION DES CYSTOLITHES

Reste à essayer de savoir quelle enzyme peut intervenir sur le maintien du calcaire des cystolithes. Les expériences faites jusqu'à nos jours dans le domaine animal montrent que deux diastases peuvent jouer un rôle dans le processus de calcification : la phosphatase alcaline (MANGAULT, 1939 ; HIATT et coll., 1953 ; BECKMANN, 1955 ; HENRICHSEN, 1958) et l'anhydrase carbonique (MELDRUM et coll., 1933 ; ZAMBOTTI, 1955 ; STOLKOVSKI, 1950-1960 ; ARVY, 1957 ; GOREAU, 1959).

L'absence de phosphore, dans tous les cystolithes analysés par la méthode spectrographique, permet de penser que la phosphatase n'a aucun rôle dans la formation des cystolithes. Reste donc à envisager le rôle de l'anhydrase carbonique.

MELDRUM et coll. ont étudié l'influence *in vitro* de cette enzyme, au cours des réactions dans lesquelles se forme du carbonate de calcium. Ils ont noté que l'anhydrase peut favoriser le dépôt de carbonate de calcium quand on l'ajoute à un mélange en équilibre, carbamate-carbonate et bicarbonate d'ammonium, agité avec une suspension de CaSO_4 . Dans ce cas, le sulfate est transformé en sulfate d'ammonium et le carbonate de calcium précipite. De plus, comme ces auteurs ont montré qu'il existe des protéines carbonates dans les liquides physiologiques, ils en ont conclu que l'anhydrase peut intervenir sur la formation des dépôts calcaires. Depuis, des expériences faites par STOLKOVSKI sur les coquilles de Mollusques, et par GOREAU sur des Coraux, ont apporté la preuve que cette enzyme intervient bien sur la précipitation du CaCO_3 . Aussi est-il normal d'envisager également son intervention dans la formation des cystolithes, à condition toutefois de s'assurer de la présence de cette enzyme dans le matériel expérimenté.

III. — MISE EN EVIDENCE DE L'ANHYDRASE CARBONIQUE DANS LES VEGETAUX EXPERIMENTES

A. — Sur les jus de plantes

Des jus de *Parietaria officinalis* et de *Pilea cadieri*, obtenus par broyage et ajoutés à un mélange de tampon phosphate et de bicarbonate de sodium

en solution dans de la soude N/50 accélèrent le dégagement de CO_2 , ce qui prouve qu'ils possèdent bien une action enzymatique (fig. 42).

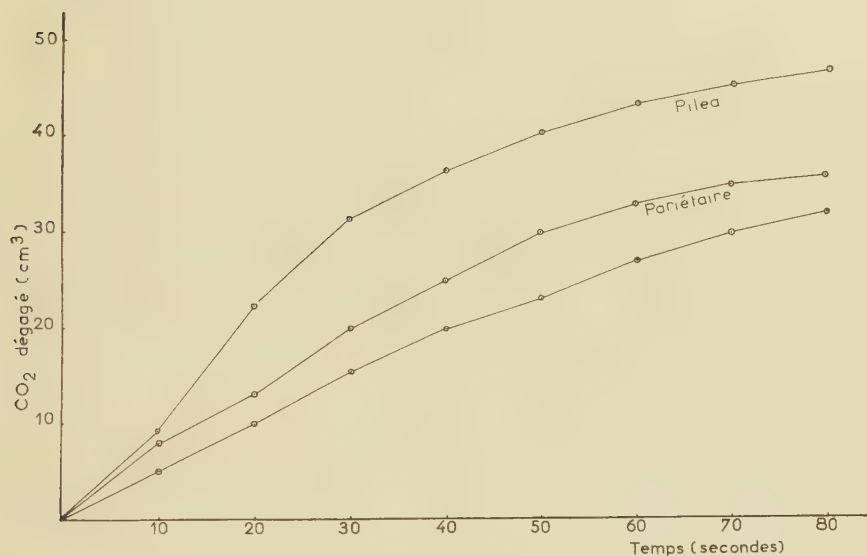


Fig. 42. — Mise en évidence de l'anhydrase carbonique chez la *Pariétaire* et le *Pilea*.

Des jus de *Pilea* ou de *Pariétaire*, ajoutés à un mélange — tampon phosphate de pH = 6,8, bicarbonate de sodium — accélèrent le dégagement de CO_2 grâce à l'anhydrase qui favorise la décomposition du H_2CO_3 en CO_2 et H_2O .

B. — Détection histochimique

Le suc cellulaire très peu fluide du *Ficus elastica* rend difficiles les extractions. Par contre les feuilles, étant grandes et coriaces, ne s'enroulent pas au cours des diverses manipulations et sont donc particulièrement favorables à la détection histochimique de l'anhydrase. En effet, il est préférable pour cette recherche de ne pas opérer sur du matériel fixé, ayant subi des déshydratations poussées qui risquent d'inhiber plus ou moins l'enzyme. De plus, l'alcool utilisé dans ces déshydratations peut provoquer la dénaturation de certaines protéines qui se colorent alors par les méthodes employées et risquent de provoquer des erreurs d'interprétations (CARMICHAEL et coll., 1957).

Pour toutes ces raisons, la détection histochimique de l'anhydrase a été appliquée sur des coupes, faites à main levée, de feuilles de *Ficus elastica*.

Les résultats obtenus indiquent qu'il y a beaucoup d'anhydrase dans l'hypoderme à grandes cellules qui se trouve sous l'épiderme supérieur

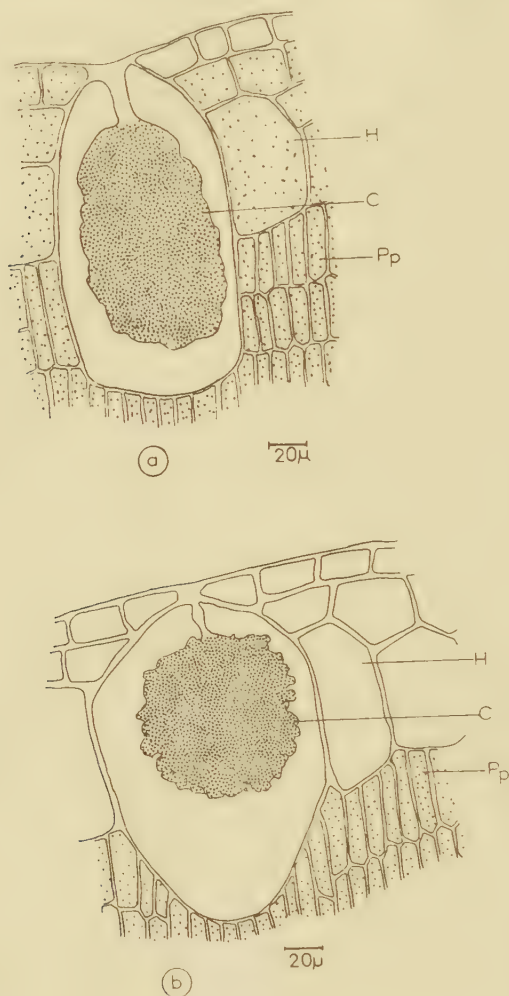


Fig. 43. — Détection histochimique de l'anhydrase carbonique sur des coupes de *Ficus elastica*.

Grâce à l'anhydrase qui favorise la décomposition du H_2CO_3 , le bicarbonate de cobalt soluble est transformé en carbonate insoluble rendu visible topographiquement par sa transformation ultérieure en sulfure de cobalt noir. Dans ces expériences, le calcium donne également du sulfure de calcium noir. Aussi faut-il faire un témoin (b) dans lequel, l'enzyme étant inhibée par le diamox, le sulfure de cobalt ne se forme pas. Par comparaison entre les deux coupes on peut détecter l'emplacement de l'anhydrase. Ici, elle se trouve donc dans l'hypoderme (H). Les granulations noires du parenchyme palissadique (Pp) et des cystolithes (C) sont dues à du sulfure de calcium.

des feuilles. En effet, les granulations noires, très nombreuses en ces points, sont inexistantes sur les coupes ayant séjourné dans le diamox ou le cyanure de potassium (fig. 43).

Notons également qu'un très grand nombre de granulations noires sont visibles dans le tissu palissadique situé juste sous les grandes cellules mentionnées. Elles demeurent, que les coupes aient séjourné ou non dans le diamox ou le cyanure, et doivent provenir de la présence d'ions divalents tels que Ca^{++} .

Une telle localisation n'a pas manqué de nous surprendre. En effet, NEISH, qui le premier en 1939 découvrit une activité anhydrique des plantes, localise cette enzyme dans les chloroplastes. DAY et coll. en 1946 font la même constatation ainsi que STEEMANN NIELSEN et coll. en 1949. Mais les travaux plus récents de BRADFIELD 1947, WAYGOOD et coll. 1950, 1951; WOOD et coll. 1952, montrent que cette erreur vient d'une absorption des protéines par les chloroplastes et que l'enzyme n'est jamais localisée dans les chloroplastes mais dans le cytoplasme, comme le vérifient nos expériences.

IV. — EXPERIENCES FAITES AVEC L'EXTRAIT ANHYDRASIQUE DE PARIETAIRE

Afin de mettre en évidence l'action de l'anhydrase, nous avons repris des jus de Pariétaire dans lesquels nous avons ajouté de la poudre d'anhydrase de ce même Végétal (1). Les résultats sont les suivants :

- (Jus de Pariétaire + extrait anhydrique) portés à l'ébullition
——→ décalcification en 2 jours.
- Jus de Pariétaire porté à l'ébullition + extrait anhydrique
——→ pas de décalcification.

Ceci permet de penser que l'anhydrase intervient bien dans la calcification des cystolithes.

V. — MODE D'ACTION POSSIBLE DE L'ANHYDRASE

Comment peut-on envisager l'action de l'anhydrase ? L'hypothèse admise est que l'anhydrase accélère la transformation des bicarbonates en carbonates en accélérant l'élimination du H_2CO_3 formé (GOOR, 1948; KREBS et coll., 1948). On aurait :

(1) Notons que cette poudre accélère le dégagement de CO_2 lorsqu'elle est ajoutée à un mélange — tampon phosphate-bicarbonate — ce qui prouve qu'elle contient l'enzyme.



anhydrase

On peut penser qu'à l'obscurité il y a peu d'anhydrase (WAYGOOD et coll., 1950), donc la réaction (2) est lente. Ainsi, tout apport externe d'acide carbonique provoque un déséquilibre de la réaction (1) et, par suite, une décalcification des cystolithes.

Afin d'essayer de vérifier cette hypothèse, des plants de Pariétaire et de *Ficus elastica* ont été maintenus à l'obscurité, dans un courant d'air débarrassé de son gaz carbonique par passage sur de l'eau de chaux. Ainsi, aucune trace de gaz carbonique n'arrive au contact des plantes. De plus, le courant d'air élimine rapidement le CO_2 dégagé par la respiration, la réaction (2) n'atteint donc jamais un équilibre et on peut penser qu'elle est accélérée comme en présence d'anhydrase. Les résultats obtenus montrent que des témoins placés à l'obscurité, dans une atmosphère normale, subissent une décalcification de leurs cystolithes, au bout de 5 à 6 jours dans le cas de la Pariétaire et de 10 à 11 jours dans le cas du Ficus. Au contraire, nous n'avons jamais pu observer de telles dissolutions du CaCO_3 dans les plantes mises dans une atmosphère sans CO_2 .

On peut donc penser que l'anhydrase agit bien sur la calcification en éliminant le gaz carbonique au fur et à mesure de sa formation. De même, dans nos expériences, cette enzyme peut empêcher la décalcification des cystolithes en activant la décomposition de toute trace d'acide carbonique externe provenant soit d'impuretés, soit de phénomènes de respiration ou de fermentation.

VI. — DISCUSSION

Avant de faire une étude critique des résultats obtenus, il est utile de rechercher s'il y a un parallélisme entre la calcification des cystolithes et la teneur des feuilles en anhydrase. Des données bibliographiques, en effet, mentionnent que :

1°) L'anhydrase carbonique est en rapport avec la photosynthèse et diminue dans les plantes placées à l'obscurité (WAYGOOD et coll., 1950), et parfois même disparaît totalement (BROWN et coll., 1955). Or, on a déjà dit que le CaCO_3 des cystolithes diminue également lorsque les plantes sont privées de lumière. Il nous a d'ailleurs été possible de provoquer des calcifications et des décalcifications successives sur un *Ficus bengalensis* placé tour à tour à la lumière et à l'obscurité.

2°) L'anhydrase est plus abondante, pour une même plante, dans les feuilles de la base que dans les feuilles du sommet (WAYGOOD et coll.). Or,

nous avons constaté que les feuilles jeunes se décalcifient très rapidement. Au contraire, les feuilles adultes, qui cependant jaunissent les premières, présentent peu ou pas de décalcification de leurs cystolithes par mise à l'obscurité des végétaux expérimentés.

3°) L'inactivation de l'anhydrase est plus forte dans les jeunes feuilles que dans les feuilles âgées (KRASINA, 1952), or elles se décalcifient également plus vite.

— Considérons maintenant la partie de nos recherches consacrée aux expériences à partir de jus de végétaux. On a vu qu'une enzyme semble intervenir dans la décalcification, puisque cette dernière n'a pas lieu dans les jus intacts de feuilles adultes, mais existe lorsqu'on ajoute un inhibiteur d'enzyme ou que l'on tue cette enzyme par la chaleur. Or ces inhibiteurs sont également des inhibiteurs de l'anhydrase et, de plus, WYGOOD et coll. montrent que cette dernière est inhibée à 50°, c'est-à-dire pour une température correspondant à celle qui provoque la décalcification dans les expériences relatives.

Cependant, ces expériences semblent en contradiction avec tout ce que nous savons sur l'anhydrase. Les différents auteurs mentionnent, en effet, que l'activité anhydrique est très peu stable dans les extraits liquides des plantes. Ainsi, BRADFIELD (1947) signale une perte d'activité en 25 heures à 15°. Dans toutes nos expériences, l'anhydrase devrait donc être inhibée au moment des observations et il devrait toujours y avoir des décalcifications, ce que nous n'avons pas observé. Comment expliquer cette contradiction ? Notons tout d'abord que, dans nos expériences, les jus sont obtenus par simple broyage et ne renferment aucun liquide étranger, alors que BRADFIELD utilisait des extraits aqueux. Dans ce dernier cas, il se peut que l'activité anhydrique soit modifiée par l'eau ayant servi à la fabrication des extraits. Nous avons constaté, en effet, que des coupes mises dans de l'eau distillée subissent une décalcification rapide de leurs cystolithes, ce qui laisse supposer une inhibition de l'enzyme par ce milieu. Dans ce dernier cas, il est vrai, on peut penser que c'est le pH acide (5,5) de l'eau qui a provoqué la dissolution du calcaire. Mais cet argument ne tient plus lorsqu'on constate qu'une solution aqueuse de cyanure de potassium, dont le pH est de 9,3, provoque également une décalcification des cystolithes, tandis que dans le liquide de Knop à pH = 4,9 ces derniers ne se décalcifient pas.

Une autre constatation peut être faite à propos des expériences sur les extraits végétaux. Dans ces extraits, en effet, la photosynthèse doit être fortement inhibée, de telle sorte que les échanges gazeux se font principalement par des phénomènes de respiration ou de fermentation. Il y a donc certainement beaucoup de H_2CO_3 qui peut provoquer les décalcifications observées dans certains cas.

Cependant, si l'anhydrase est présente, le H_2CO_3 formé par la respiration ou par des fermentations possibles est éliminé au fur et à mesure de sa formation selon la formule



Mais, si l'enzyme est inhibée, ce dégagement est plus lent, et l'acide carbonique formé réagit sur le calcaire des cystolithes en le transformant en bicarbonate.

— Les mêmes phénomènes pourraient intervenir dans les expériences sur coupes. Si, cependant, la décalcification est incomplète avec le cyanure en solution dans du Knop, ceci provient, vraisemblablement, du fait qu'un équilibre chimique se fait entre le calcium des carbonates, des bicarbonates et du liquide de Knop lui-même.

— L'action du cyanure sur les feuilles est plus contestable. En effet, l'aspect de ces feuilles indique que leur métabolisme est fortement perturbé au point de pénétration du poison. La décalcification peut donc, dans ce cas, provenir de réactions différentes dans lesquelles on ne peut pas être sûr que l'anhydrase ait joué un rôle.

— Reste à expliquer maintenant le fait que les cystolithes des Acanthacées et du *Pilea* se décalcifient peu ou pas à l'obscurité, contrairement à ceux des Urticacées et des Moracées. Deux hypothèses peuvent être envisagées :

1°) Les cystolithes se décalcifient, mais, étant beaucoup plus nombreux (rappelons qu'ils sont répartis non seulement dans les feuilles, mais aussi dans les tiges et parfois dans les racines), la décalcification est trop incomplète pour être visible par de simples observations microscopiques.

2°) L'anhydrase est moins abondante dans les Urticacées et les Moracées que dans les Acanthacées et le *Pilea*.

A l'appui de la première hypothèse, rappelons que RABIGER, par des dosages de calcium, trouve une diminution du CaCO_3 dans le *Sanchezia parvibracteata* mis à l'obscurité. De plus, dans les expériences sur des extraits de feuilles, les cystolithes du *Pilea* se comportent exactement comme ceux de la Pariétaire.

En faveur de la seconde hypothèse, par contre, on peut citer les expériences ayant porté sur des extraits de feuilles jeunes. On a vu que, dans ce cas, les cystolithes se décalcifient dans les extraits de Pariétaires, mais pas dans ceux du *Pilea*. Ceci peut s'expliquer par une abondance plus grande d'anhydrase dans les feuilles du *Pilea*. Rappelons, de plus, que les cystolithes du *Ruellia strepens* (Acanthacée) sont beaucoup moins tributaires de la lumière que ceux du *Parietaria officinalis* (Urticacée), puisqu'ils se forment dans les germinations éclairées seulement quelques heures par jour. Ceci est peut-être dû, justement, au fait que l'anhydrase, plus abondante

dans le *Ruellia*, permet une calcification plus importante des cystolithes. En effet, MELDRUM et coll. (1933), ROUGHTON et coll. (1934, 1938), BYERRUM et coll. (1952), MAETZ (1955), HOTTA et coll. (1958) ont montré que l'action enzymatique de l'anhydrase est proportionnelle à la quantité de l'enzyme contenue dans le milieu.

— Une dernière observation s'impose, enfin, au sujet de cette hypothèse enzymatique de la calcification des cystolithes. Le calcaire des cystolithes est amorphe. Or, POBEGUIN (1951-1954) admet que le CaCO_3 ne se dépose sous forme amorphe que lorsque la diffusion des ions a lieu très rapidement. D'autre part, ARVY (1957), dans le cas des Animaux, signale que lorsque la vitesse du dépôt calcique est lente, les réactions chimiques peuvent se faire sans l'intervention de l'anhydrase. Si on tente, au contraire, d'augmenter cette vitesse, par addition d'oxalo-acétate par exemple, la présence de l'enzyme est indispensable, car les réactions d'équilibre chimique deviennent limitatives. En conséquence, l'anhydrase, en activant le départ du CO_2 , pourrait avoir un rôle sur la nature même du calcaire. En faveur de cette hypothèse, notons que STOLKOVSKI (1950) parvient, expérimentalement, à fabriquer du CaCO_3 amorphe avec des solutions de bicarbonate et de phosphate en éliminant le CO_2 par un courant d'azote, ou en mettant de l'anhydrase dans les solutions.

Sans apporter de résultats absolument certains, les expériences relatées dans ce chapitre nous permettent donc de croire à l'intervention de l'anhydrase dans la calcification des cystolithes. Naturellement, beaucoup de points restent encore à vérifier. En particulier, les expériences relatées sont grossières, et il aurait fallu pouvoir poursuivre des recherches, non sur une décalcification possible des cystolithes, comme nous l'avons fait, mais sur leur propre calcification. Aussi devons-nous les considérer comme de simples recherches préliminaires susceptibles d'être développées par des moyens d'étude plus précis.

CONCLUSIONS ET COMMENTAIRES GENERAUX

Les cystolithes des Végétaux supérieurs ont donné lieu à des recherches assez dispersées. Certains chercheurs les ont classés diversement, d'autres ont étudié leur développement et ont essayé de voir leur rôle dans la photosynthèse, comme agents antitoxiques ou comme substance de réserve.

Le but de ce travail a été de reprendre la question des cystolithes aux points de vue aussi bien systématique, que morphologique et physiologique. Nous résumerons tout d'abord brièvement les résultats obtenus. Nous essaierons ensuite de dégager les quelques idées générales que nos recherches ont permis d'acquérir, puis de mettre l'accent sur les nombreux problèmes que ces recherches mêmes ont pu soulever.

I. — RESUME DES PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS

A. — Etude morphologique

L'étude de l'emplacement du pédicelle a permis de distinguer :

— *Les cystolithes globuleux* (fig. 4) dont le pédicelle est toujours issu de la membrane tangentielle externe du lithocyste (type *Parietaria*).

— *Les cystolithes allongés du type Ruellia* (fig. 5 a) dont le pédicelle est situé dans l'axe du corps cystolithique et prend toujours naissance sur une des membranes radiales des lithocystes des tiges et des racines, mais de façon moins stricte dans le cas des cystolithes foliaires où les corps cystolithiques peuvent, quelques rares fois, être perpendiculaires et non parallèles à la surface du limbe foliaire.

— *Les cystolithes allongés du type Pilea* (fig. 5 b) dont le pédicelle est perpendiculaire à l'axe cystolithique et prend naissance, comme celui des cystolithes globuleux, sur la membrane tangentielle externe des lithocystes.

A côté de ces trois groupes, certaines concrétions en amas, dans les cellules des Borraginacées en particulier, présentent un rudiment de pédicelle permettant de les rapprocher des véritables cystolithes et de montrer combien il est difficile d'établir, de façon nette, une limite entre ces derniers et les concrétions calco-cellulosiques de certaines cellules.

Cette classification des cystolithes correspond à des caractères systématiques et anatomiques bien déterminés. En effet :

— Les cystolithes allongés (type *Ruellia*), très répandus dans la famille des Acanthacées, se rencontrent dans tous les organes, aériens et souterrains, de la plante. Ils sont localisés dans le parenchyme et l'épiderme, et quelquefois dans le collenchyme.

— Les cystolithes allongés (type *Pilea*) se rencontrent surtout dans une tribu des Urticacées : les Procridéés. Leur localisation est intermédiaire entre les deux autres. On les trouve dans les épidermes foliaires et dans les épidermes et le parenchyme cortical des tiges, mais nous n'en avons jamais observé dans les racines.

La valeur systématique des cystolithes est très nettement marquée et l'on a pu voir que :

1°) A l'intérieur d'une tribu ou d'une sous-tribu donnée, ils sont comparables quant à leur forme.

2°) Si certains genres d'une même famille sont dépourvus de cystolithes, ils appartiennent également à des tribus ou des sous-tribus dont tous les genres en sont dépourvus, et se rapprochent par conséquent les uns des autres par d'autres caractères anatomiques ou morphologiques. Exemple : Tribus des Nelsoniées et des Thunbergiées, sous-tribus des Acanthées et des Aphelandrées, dans les Acanthacées.

3°) Les cystolithes de tous les représentants d'une même famille, malgré des aspects extérieurs parfois différents, dérivent en général d'une même catégorie de membranes tangentiellles ou radiales. Exemple : Les Urticacées possèdent en général des cystolithes globuleux. Cependant, nous avons vu que les représentants de la tribu des Procridéés ont des cystolithes allongés. Mais ces derniers sont toujours du type *Pilea* et, par conséquent, leur pédicelle prend naissance sur la membrane tangentielle externe des lithocystes comme celui des cystolithes globuleux.

Tous ces caractères concernent les cystolithes des Végétaux supérieurs qui seuls semblaient, jusqu'ici, pouvoir renfermer ces formations. Cependant, nous avons pu montrer que les cystolithes peuvent exister également dans une Algue telle que le *Peyssonnelia rubra*, ce qui laisse supposer que leur répartition dans le règne végétal est plus étendue qu'il n'était admis jusqu'à présent.

*
* *

Le processus de développement des cystolithes est commun à tous, quelle que soit leur forme ou leur répartition dans les organes ou les tissus. En effet, ils prennent tous naissance dans des cellules particulières qui se dif-

férencient très jeunes des autres cellules par leur taille plus importante : les lithocystes. Au contact même du cytoplasme se forme le pédicelle, simple diverticule membranaire, qui s'allonge et s'épanouit à son extrémité en une trame plus ou moins développée selon les cystolithes étudiés, et sur laquelle se dépose le calcaire. Dès que le CaCO_3 commence à la recouvrir, le jeune cystolithe s'épaissit par accroissement de la trame et du dépôt calcaire. La concrétion, en s'épaississant, comprime le cytoplasme qui se trouve localisé dans l'espace restant, mais demeure toujours vivant avec un noyau normalement constitué et des vacuoles susceptibles de se colorer.

Les dépôts calcaires en amas ont un mode de développement analogue à celui des cystolithes vrais, mais ne forment pas de pédicelles et de corps cystolithiques nettement différenciés.

*
* *

Par l'étude du mode d'apparition et de la répartition des cystolithes, dans les limbes foliaires, nous avons pu montrer que :

— *Les feuilles de Parietaria officinalis* (Urticacée à cystolithes globuleux) et de *Ruellia strepens* (Acanthacée à cystolithes fusiformes) différencient peu à peu leurs cystolithes au cours de leur existence, mais le nombre de nouveaux cystolithes formés diminue avec l'âge des feuilles.

— *La taille de ces corps n'est pas homogène à l'intérieur d'une même feuille.* Dans le *Parietaria officinalis* et le *Ficus elastica*, ils sont moins volumineux dans la zone pétiolaire que dans la pointe du limbe et aussi moins nombreux :

— Enfin, *plusieurs facteurs interviennent sur la calcification des cystolithes.*

1°) *La croissance* : C'est un facteur non négligeable, de telle sorte que, si une feuille est stoppée dans son développement, la précipitation du CaCO_3 est en partie ralentie. Ce qui nous permet d'affirmer que, de deux feuilles également éloignées du bourgeon principal, la plus développée est celle qui possède également les cystolithes les plus volumineux.

2°) *Le milieu* : Deux feuilles également éloignées du bourgeon principal ont des cystolithes d'autant plus volumineux que les plantes sur lesquelles elles se trouvent ont poussé sur des milieux plus riches en calcium.

3°) Mais avant tout, *le CaCO_3 semble s'accumuler peu à peu au cours de l'existence des feuilles.* De telle sorte que, ce qui intervient surtout sur la taille des cystolithes, c'est la distance des feuilles au bourgeon principal, donc leur *âge physiologique*. Nous avons vu, d'ailleurs, que ce fac-

teur temps est tellement important qu'il arrive bien souvent à masquer l'action de la croissance des feuilles et celle du milieu sur lequel sont cultivées les plantes étudiées.

*
* *

Comme l'étude du développement des cystolithes, celle de la nature chimique permet de trouver des caractères communs à chacun d'eux. On a vu en effet que :

— *Les cystolithes sont des corps de nature complexe* qui renferment, outre le CaCO_3 , un grand nombre d'éléments coprécipités, les uns en quantité appréciable : Mg, Si, Sr, Al, les autres à l'état de traces : Ti, Fe, Cu, Pb, Mn, Sn. Par contre, ils ne renferment jamais de phosphore.

— *Tous les cystolithes des Végétaux supérieurs ainsi que les formations assimilées sont en calcaire amorphe.*

On peut mettre en évidence, par microincinération, un fin voile silicaté qui doit jouer un rôle important dans la stabilisation du CaCO_3 sous forme amorphe. De plus, les pédicelles des cystolithes globuleux s'entourent d'une gaine siliceuse qui, peu importante dans le *Parietaria officinalis*, peut devenir très épaisse dans le *Ficus sycomorus* ou le *Broussonetia papyrifera*.

Ces corps silicatés, peu abondants dans les dépôts en amas du *Cerinthia major*, font totalement défaut dans les cystolithes du *Peyssonnelia rubra*. Dans ce dernier cas, l'absence d'ion silicium peut permettre d'expliquer la précipitation du CaCO_3 sous forme d'aragonite et non sous forme amorphe.

— *Des substances calloso-pecto-cellulosiques constituent la trame* de toutes les formations étudiées. Cette trame, incrustée de silicium dans les Végétaux supérieurs, forme des strates successives très serrées aux abords du pédicelle, plus lâches à la périphérie, et sur lesquelles se dépose le carbonate de calcium.

B. — Etudes physiologiques

La lumière a une action sur la calcification des cystolithes et celle-ci ne se fait pas quand les plantes sont maintenues à l'obscurité. Toutefois, les exigences en lumière des cystolithes des Acanthacées, tel le *Ruellia strepens* (1 à 3 heures d'éclairement journalier à 3.000 lux), sont beaucoup moins importantes que celles des Urticacées, tel le *Parietaria officinalis* (5 à 7 heures de lumière par jour).

*
* *

Les variations des diverses formes de calcium au cours de la vie d'une même Pariétaire se développant sous des conditions rigoureusement contrôlées ont été étudiées.

Le calcium total, par unité de poids, augmente pendant les trois premiers mois de la vie des Pariétaires. Il diminue ensuite pour se stabiliser, vers quatre mois, à un taux qui demeure, par la suite, à peu près constant. Dans les très jeunes Pariétaires de 15 jours et 1 mois, le calcium est principalement à l'état soluble. Puis les cystolithes se calcifient rapidement et provoquent une chute du calcium soluble dans le Végétal. Vers 2 mois, il y a autant de Ca^{++} sous forme soluble que sous forme de carbonate, mais une deuxième forme de calcium insoluble devient dosable : celle des oxalates. Jusqu'à 3 mois, le calcium des oxalates et des carbonates augmente, tandis que la forme soluble de cet élément continue à diminuer. Entre 3 et 4 mois, les phénomènes sont perturbés par la chute des feuilles et les troubles métaboliques dont paraissent souffrir les Pariétaires et qui provoquent la mort d'un certain nombre d'entre elles. Cela correspond à un manque d'absorption momentanée du calcium externe qui se traduit par une diminution du calcaire des cystolithes, tandis que le calcium des oxalates continue à augmenter faiblement et que le calcium soluble ne varie pas. A partir de 4 mois l'équilibre est atteint, et le taux des diverses formes de calcium paraît à peu près constant.

*
* *

De l'étude poursuivie sur l'action des différents ions sur la croissance des Pariétaires et l'absorption du calcium par ce Végétal, on a pu conclure que :

Le chlorure de sodium, ajouté dans le milieu témoin, a une action non négligeable sur les Pariétaires. Il accélère leur croissance, favorise l'absorption du calcium lorsqu'il est présent en faible quantité, mais freine cette dernière quand sa concentration dans le milieu extérieur dépasse 2 milli-molécules gramme par litre.

La carence calcique provoque la formation de Végétaux peu développés, sans racines adventives, présentant de fortes nécroses des bourgeons, mais dans lesquels on trouve cependant des cystolithes rudimentaires réduits à leurs pédicelles.

La carence magnésienne se manifeste par des symptômes de chlorose et de défoliation. De plus, le taux du calcium des cystolithes est fortement diminué, l'absence de Mg^{++} devant gêner la pénétration de cet ion dans le Végétal.

La carence potassique augmente au contraire le taux des différentes formes de calcium.

L'adjonction de calcium à un milieu carencé en cet élément accélère la croissance des Pariétaires, jusqu'à un optimum qui correspond à une concentration externe de 8 mI Ca^{++} par litre. Au-delà de cette concentration les plantes deviennent plus chétives et chlorotiques. Si l'on compare la quantité de calcium absorbée par les racines à celle donnée dans les milieux, on constate que la plante absorbe le calcium du milieu, même s'il est toxique pour elle. Cependant, l'absorption n'est pas proportionnelle à la quantité de calcium fournie, et plus cette dernière est forte, plus la proportion absorbée est faible. Quoi qu'il en soit, la masse de calcium puisée par la plante dans le milieu extérieur étant de plus en plus élevée, le taux du calcium total des Pariétaires devient lui-même de plus en plus fort (consommation de luxe). Avec de faibles concentrations de cet élément dans le milieu extérieur, les proportions de calcium soluble et insoluble augmentent parallèlement. On constate cependant que, rapidement, la quantité d'ions Ca^{++} , fixée sous forme d'oxalate, devient constante, les deux autres formes continuant à augmenter. Quand la concentration externe atteint 8 mI Ca^{++} (valeur requise pour l'optimum de croissance), c'est le taux du calcium des cystolithes qui devient constant. Seul, alors, le taux du calcium soluble continue à croître, d'où une diminution de la croissance des Pariétaires. C'est cette diminution de croissance, liée au fait que le taux du carbonate cesse d'augmenter, qui a permis de penser que les cystolithes ont une action antitoxique en absorbant du calcium puisé en trop forte quantité par la plante dans le milieu extérieur. Mais cependant, ils ne servent pas simplement à accumuler le calcium excédentaire de la plante. Ils font, au contraire, partie intégrante du Végétal, puisqu'il s'en forme quelle que soit la concentration en Ca^{++} du milieu extérieur.

Les ions magnésium ajoutés aux milieux de culture accélèrent également la croissance des Pariétaires, l'optimum étant atteint pour une concentration de 4 mI gramme par litre. De plus, jusqu'à cette concentration, ils provoquent une augmentation des différentes formes de calcium des tissus végétaux, mais, au-delà, on constate une diminution des taux de cet élément. Il s'ensuit que le magnésium agit vraisemblablement sur la perméabilité des cellules puisque le taux du calcium varie dans le même sens que le poids des plants.

L'action du potassium sur la croissance est la même que celle du calcium et du magnésium. Mais il peut être supporté en quantité très forte par la Pariétaire, puisque des milieux en contenant 32 mI par litre n'ont pas permis d'obtenir l'optimum de croissance.

De plus, son action sur la teneur en calcium des tissus végétaux est

totalelement différente de celle du magnésium. Ainsi, une augmentation externe des ions K^+ se traduit par une diminution du taux des différentes formes de calcium emmagasinées dans les Pariétaires, la masse totale absorbée par les différents plants demeurant relativement constante.

Tous ces faits permettent de penser que le potassium n'agit pas de la même façon que le magnésium sur la perméabilité des cellules. Par sa présence seule, et non par sa concentration, il freine l'entrée du calcium dont le taux, de ce fait, diminue lorsque la croissance des Végétaux augmente.

*
* *

L'action du strontium sur les cystolithes a été également étudiée. Cet ion, très voisin de l'ion calcium, est si toxique pour la Pariétaire qu'elle meurt à l'état de plantule quand tout le calcium est remplacé par du strontium dans le milieu de culture. Les cotylédons de ces plantules renferment cependant des cystolithes parfaitement minéralisés, mais très fortement biréfringents au microscope polarisant. Cette biréfringence est, très probablement, due à la présence de carbonate de strontium cristallisé qui a pris la place du $CaCO_3$ amorphe. Cette conclusion s'appuie sur les résultats obtenus lors des analyses spectrographiques de cystolithes de Pariétaires s'étant développées sur un milieu renfermant 0,5 mI Ca^{++} et 1,6 mI Sr^{++} par litre. On retrouve, en effet, les mêmes éléments constitutifs que dans les cystolithes normaux, mais le strontium y est beaucoup plus fortement représenté. Les cystolithes, comme le squelette humain (BAUER et coll., 1955), accumulent donc aussi bien le strontium que le calcium. Et, soit pour cette raison, soit par suite d'une action directe, ils peuvent, par conséquent, avoir un rôle antitoxique en neutralisant une partie du strontium nuisible pour les Pariétaires.

Notons, enfin, que les expériences entreprises sur le strontium ont permis de constater que cet ion a également une action très nette sur le taux de chlorophylle a et b qui se trouve augmenté, ainsi qu'on a pu le vérifier par des chromatographies.

*
* *

Nous avons encore montré que les cystolithes peuvent, dans certains cas, servir de réserve de calcium pour les plantes. Ainsi, en supprimant cet élément au cours de la vie de la Pariétaire, le carbonate des cystolithes se solubilise, et l'ion Ca^{++} est réutilisé par la plante. L'oxalate de calcium continue, au contraire, à se former durant ces expériences.

*
* *

Enfin, un certain nombre d'expériences paraissent apporter des faits assez probants en faveur du rôle de l'anhydrase dans la calcification des cystolithes.

II. — CONSIDERATIONS D'ORDRE GENERAL

Au terme de cette étude, il est possible de dégager quelques idées d'ensemble des résultats obtenus tant morphologiques que physiologiques. Mais les recherches soulèvent bien des problèmes qu'il convient également de mettre en évidence.

*
* *

Il faut remarquer, tout d'abord, que *les cystolithes, malgré des aspects morphologiques variés et qui ont été ramenés à trois types principaux, présentent une grande uniformité de constitution*. Ils prennent naissance dans une cellule vivante, au contact du cytoplasme, et à l'extrémité d'un pédicelle qui n'est qu'un diverticule de la membrane cellulaire. Le dépôt minéral s'opère par couches successives, sur une trame dont la composition est voisine de celle du pédicelle. Ce dépôt est toujours constitué de calcaire précipité sous forme amorphe. Nous avons pu montrer que tous les résultats contradictoires publiés sur la constitution des cystolithes (cystolithes uniquement siliceux, lignifiés, en calcaire cristallisé) étaient dus à des confusions entre la trame et la concrétion minérale elle-même, ou à des observations faites sans précautions. Les cystolithes comprennent tous, associés à leur carbonate amorphe, des ions silicium, très probablement sous forme de silicate. Cela vient à l'appui de l'hypothèse que l'ion silicium jouerait, chez les Végétaux, le rôle du phosphore chez les Animaux, qui, à l'état de phosphate, permet la précipitation du carbonate de calcium sous forme amorphe. Un autre fait est d'ailleurs venu renforcer cette hypothèse. Alors que, jusqu'à présent, les cystolithes semblaient être l'apanage des Angiospermes, nous avons trouvé une Algue rouge, le *Peyssonnelia rubra*, qui renferme ces formations. Une seule différence existe entre les cystolithes de ce Thallophyte et ceux des Végétaux supérieurs. Le calcaire est, ici, sous forme cristallisée (aragonite). Or, par micro-incinération, il n'a pas été possible de mettre en évidence de silice. Malgré de nombreuses tentatives, la taille très faible des cystolithes du *Peyssonnelia rubra* n'a pas permis de soumettre ceux-ci à l'analyse spectrographique qui, seule, aurait pu confirmer nos observations microscopiques.

Mais il est permis d'espérer que ces concrétions seront retrouvées dans d'autres Végétaux inférieurs, et que leur observation confirmera probablement nos résultats.

*
* *

Un autre problème soulevé par ces recherches est celui de l'origine et de la différenciation des cystolithes. Certains travaux pouvaient permettre de penser qu'ils se différencient tous au même moment, d'autres au contraire, qu'ils apparaissent successivement au cours de la vie du Végétal. En fait, *les cystolithes se forment peu à peu au cours de la différenciation des feuilles*, donc au fur et à mesure que le calcium est absorbé par la plante. C'est une des raisons pour laquelle le taux des carbonates dans la Pariétaire augmente avec l'âge de cette dernière, donc en fonction du nombre de ses cystolithes. En outre, la répartition des cystolithes correspond à celle des ions Ca^{++} dans la feuille. Plusieurs auteurs, en effet, ont montré que le calcium s'accumule de façon élective au sommet de cet organe. Or, les cystolithes sont, à cet emplacement, plus volumineux, et surtout plus nombreux par unité de surface, que dans la zone pétioleaire moins riche en ions Ca^{++} , ce qui est en faveur de l'adage : le besoin crée l'organe.

Cependant, la partie physiologique de nos recherches a permis de voir qu'une Pariétaire croissant sur un milieu sans calcium possède encore des cystolithes. Ceux-ci se différencient à l'état de pédicelle, mais ne se recouvrent pas de carbonate de calcium, puisque la plante n'a pas d'ions Ca^{++} à sa disposition. Inversement, les Pariétaires se développant sur des milieux de plus en plus riches en calcium possèdent des cystolithes qui fixent de plus en plus de CaCO_3 , jusqu'à une concentration en Ca^{++} du milieu extérieur de 8 mI. A partir de ce moment, les cystolithes ne retiennent plus le calcium excédentaire qui demeure dans la plante à l'état de calcium soluble, produisant des perturbations dans la croissance générale des individus. Il faut donc admettre que les cystolithes appartiennent au patrimoine génotypique de l'individu et que le nombre maximum qu'il peut différencier n'est pas fonction du milieu extérieur. Leur formation, au contraire, est liée au métabolisme général de la plante.

Il serait intéressant, cependant, d'étudier l'action du milieu extérieur sur la formation même des cystolithes. On a vu que FREISLEBEN (1933) avait tenté de résoudre ce problème, mais ses recherches reposent sur des comparaisons du nombre de cystolithes par unité de surface foliaire. Or, les valeurs qu'il indique ne permettent pas de savoir si le calcium agit sur le nombre réel des cystolithes ou si les résultats obtenus proviennent simplement de l'action du calcium sur la croissance des Végétaux, le taux des cystolithes augmentant au fur et à mesure que la croissance diminue par

suite d'une trop grande concentration du milieu extérieur en ions Ca^{++} . Seules donc des études sur le nombre total des cystolithes de feuilles, de même âge physiologique, pourront permettre d'élucider la question. Cette étude viendrait compléter celle de la différenciation des cystolithes au cours de la vie des Végétaux. Ainsi pourrions-nous avoir quelques renseignements sur leur origine réelle en montrant s'ils sont héréditaires, et de ce fait en nombre fixe, pour un âge donné, quelles que soient les conditions externes, ou si la formation d'un certain nombre d'entre eux est en relation avec le milieu extérieur.

*
* *

Le mécanisme de formation des cystolithes reste très complexe. Le cytoplasme a certainement un rôle dans leur constitution. Nous avons émis l'hypothèse qu'il peut faire migrer les ions Ca^{++} entrant dans la composition du calcaire. Mais, le fait de trouver, dans la trame et le pédicelle, les constituants communs des membranes permet de penser qu'il participe également à la formation de ces derniers. Il est admis, en effet, que le cytoplasme joue un rôle dans l'élaboration des membranes cellulaires (SINNOTT et coll., 1945 ; FARR, 1949 ; FREY WYSSLING, 1950 ; ESAU, 1953).

*
* *

Les résultats obtenus permettent de penser qu'il y a un rapport entre la calcification des cystolithes et la photosynthèse. Mais cette action pose cependant un problème. On a vu que les cystolithes, selon le type auquel ils appartiennent, ont une localisation bien déterminée. Les cystolithes globuleux n'existent que dans les feuilles. Les cystolithes fusiformes, du type *Pilea*, sont localisés dans les feuilles et les tiges. Les cystolithes fusiformes, du type *Ruellia*, sont présents non seulement dans les organes aériens, mais aussi dans les racines. Or, même le *Ruellia* ne peut calcifier ses cystolithes qu'à la lumière, bien qu'un certain nombre de ceux-ci se forment dans des organes qui se développent à l'obscurité. Ce premier résultat permet d'envisager que l'action de la photosynthèse sur la calcification des cystolithes doit être indirecte. Il faut observer cependant que :

1°) Les plantes à cystolithes globuleux réclament plus de lumière, pour la calcification de ces derniers, que les plantes à cystolithes fusiformes (5 à 7 heures pour les premières, 1 à 3 heures pour les secondes).

2°) Les cystolithes globuleux se décalcifient rapidement lorsqu'on place les Végétaux qui les renferment à l'obscurité, contrairement aux cystolithes

fusiformes sur lesquels il est pratiquement impossible d'observer, au microscope, de décalcification dans les mêmes conditions.

Les besoins plus ou moins importants en lumière, des plantes à cystolithes, semblent donc être en rapport avec la forme de ces derniers et leur présence dans les tiges et dans les organes souterrains.

D'autres études à ce sujet devraient être entreprises. Il serait intéressant, par exemple, d'observer l'ordre dans lequel la calcification s'opère dans les différents organes d'une plante renfermant des cystolithes dans ses tiges et surtout dans ses racines. Dans ce dernier cas, il y aurait lieu d'étudier le degré de calcification de ceux-ci en fonction de la durée d'éclairement de la partie aérienne. L'étude de la répartition des trois formes de calcium (calcium soluble et lié, calcium des cystolithes, calcium des oxalates), dans les différents organes du Végétal, pourrait être également fructueuse. Il est admis, en effet, que le calcium s'emmagine surtout dans les feuilles, et que ses formes insolubles se trouvent en abondance dans les limbes foliaires âgés. Or, la présence en grand nombre de cystolithes, dans les tiges et surtout dans les racines de certaines plantes, permet de penser que la faculté d'absorption du calcium de ces dernières est probablement très forte. Aussi peut-on penser que la décalcification, dans ce cas, intervient bien à l'obscurité, comme dans le cas des cystolithes globuleux, mais elle se répartit sur un grand nombre de ces formations, ce qui pourrait expliquer qu'elle n'est pas visible au microscope. D'où la nécessité de dosages avant et après la mise à l'obscurité des Végétaux.

L'action de la photosynthèse peut également être due au rapport qui existe entre cette dernière et la présence d'anhydrase dans les plantes. On a vu, en effet, que cette enzyme peut jouer un rôle dans la calcification des cystolithes. Elle faciliterait la décomposition de H_2CO_3 , formé lors de la transformation des bicarbonates en carbonates, en activant le départ de CO_2 . Or, nous savons qu'elle diminue à l'obscurité, ce qui expliquerait la décalcification des cystolithes par élimination insuffisante du H_2CO_3 dans les plantes obscurcies. Les plantes riches en anhydrase pourraient cependant, malgré leur mise à l'obscurité, conserver un taux suffisant de cette enzyme pour ne pas subir de décalcification de leurs cystolithes. C'est l'hypothèse que nous avons retenue pour le *Pilea cadieri*. Une question se pose toutefois dans le cas du *Ruellia*. On sait que l'anhydrase diminue à l'obscurité, par conséquent les racines de ce Végétal ne devraient renfermer qu'une faible quantité de cette enzyme. Or, elles comprennent de nombreux cystolithes. Aussi peut-on penser que, dans ce cas, la forte proportion des ions Ca^{++} suffit à assurer leur précipitation sous forme de carbonate par simple équilibre chimique, sans que l'anhydrase ait à intervenir.

Rien, cependant, n'a été fait sur la présence possible de l'anhydrase dans les racines des Végétaux. Aussi serait-il intéressant d'approfondir cette question, en dosant l'anhydrase dans toutes les catégories de plantes à

cystolithes et, à l'intérieur de chacune d'elles, dans tous les organes contenant ces formations, et en la localisant histochimiquement dans les tissus. Il serait utile également d'étudier l'action de cette enzyme non plus sur la décalcification, mais sur la calcification des cystolithes aussi bien aériens que souterrains. Enfin, il y aurait lieu de rechercher si une autre enzyme, ayant un rôle semblable à celui de la phosphatase chez les Animaux, ne pourrait pas agir en présence du silicium.

*
* *

Le rôle des cystolithes reste maintenant à envisager. Les expériences entreprises, pour vérifier une possible réutilisation de leur calcium, se sont montrées assez démonstratives et permettent d'affirmer que *les Pariétaires, carencées en Ca^{++} , peuvent solubiliser, au moins partiellement, celui de leurs cystolithes*. Une partie sert vraisemblablement à neutraliser les ions oxaliques au fur et à mesure de leur formation, mais une autre partie ne se retrouve pas dans les dosages. Il est logique de supposer que ce doit être celle qui sert à l'édification du protoplasme, et surtout des membranes, et qui doit être si fortement liée qu'elle n'est pas extraite par notre technique.

Mais les cystolithes jouent aussi un rôle antitoxique. C'est ainsi que les dosages, effectués lors de la culture des Pariétaires sur des milieux de plus en plus riches en calcium, ont montré qu'une partie de ces ions en excès s'accumule sous forme de CaCO_3 . Remarquons que, dans ce cas précis, le rôle des cystolithes est cependant limité, car sur des milieux trop riches en calcium ils ne dépassent pas une taille maximum. Les ions Ca^{++} excédentaires s'accumulent sous forme soluble, provoquant une chute de croissance des Pariétaires.

Le comportement des cystolithes en présence des ions strontium est plus difficile à interpréter. Nous avons montré, en effet, que des Pariétaires, cultivées sur du milieu de Knop dont le $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ a été remplacé par du $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$, accumulent dans leurs cystolithes du strontium à l'état cristallisé. Lorsque le milieu renferme à la fois les ions Ca^{++} et Sr^{++} , on retrouve ces deux éléments dans les cystolithes, mais le strontium y est beaucoup plus abondant que dans les cystolithes ordinairement formés par le Végétal. Deux hypothèses peuvent être émises à ce sujet :

— Ou bien la plante, pour laquelle l'ion strontium est toxique, se protège de cet élément en le fixant sur ses cystolithes (rôle antitoxique).

— Ou bien la plante, étant incapable de faire une discrimination entre l'ion Sr^{++} et l'ion Ca^{++} , se comporte de la même façon vis-à-vis de l'un et de l'autre. C'est l'hypothèse adoptée par BAUER et coll. (1955) à propos des Animaux.

La première hypothèse paraît la plus plausible. Deux faits militent en sa faveur :

1°) *Les cystolithes sont capables de capter, à l'état de traces, des éléments non utilisés ordinairement par les plantes, et qui sont beaucoup plus différents du calcium que l'ion strontium, tels que l'aluminium, le titane, le fer, le cuivre, le plomb, le manganèse et même l'étain.*

2°) *A développement égal, les plantes cultivées sur un milieu renfermant du strontium possèdent des cystolithes plus volumineux que ceux des Végétaux qui se sont développés sur un milieu calcifié, mais dépourvu de strontium.*

Mais d'autres expériences seraient nécessaires pour vérifier cette manière de voir. Ainsi serait-il utile d'étudier l'action comparative du strontium sur la croissance de végétaux voisins, renfermant ou non des cystolithes. L'action du baryum, dont les propriétés sont voisines de celles du calcium et du strontium, et qui appartient, comme ces deux derniers, au groupe des alcalino-terreux, pourrait également donner des renseignements utiles sur le rôle antitoxique probable des cystolithes.

Enfin, il y aurait lieu de faire des études spectrographiques comparatives des cystolithes normaux et des cystolithes biréfringents recouverts de carbonate de strontium. Ceci permettrait non seulement de savoir si leur constitution ionique est la même que celle des cystolithes ordinaires, mais encore de voir si le silicium est présent, malgré la forme cristallisée de la partie minérale.

*
* *

La présence constante, et en proportion notable, de magnésium nécessiterait, elle aussi, d'autres recherches. Cet ion, en effet, constitue avec le silicium l'élément le plus abondant des cystolithes, après l'ion Ca^{++} . Il n'est certainement pas capté par ces formations parce qu'il est toxique pour le Végétal, puisqu'on a vu que cet ion accélère la croissance des Pariétaires. Il faut donc penser qu'il fait partie intégrante des cystolithes, et il serait intéressant de déterminer si la quantité de magnésium, fixée par les cystolithes sous forme insoluble, varie ou non en fonction de sa richesse dans les milieux de culture.

*
* *

D'autres résultats, non en rapport direct avec le problème des cystolithes, se sont révélés cependant intéressants. Signalons, parmi ceux-ci, un des rôles du potassium sur la perméabilité cellulaire qui, à notre connaissance, n'avait jamais été mis en évidence. On a vu, en effet, que cet ion agit

sur la pénétration du calcium dans les racines des Pariétaires, la quantité absorbée de cet élément demeurant fixe quelle que soit la concentration de l'ion K^+ . En l'absence de potassium, au contraire, l'ion calcium est absorbé en très grande quantité par les plantes, qui paraissent ne pas pouvoir se défendre contre sa pénétration. Les dosages indiquent que le taux du calcium des cystolithes est très fort et correspond au taux maximum, atteint par les cystolithes des Pariétaires cultivées sur des milieux très riches en calcium. Le calcium soluble est en forte augmentation également, et l'on peut se demander si la diminution de croissance, provoquée par la carence potassique, n'est pas due à l'excès de calcium sous forme soluble emmagasiné par les plantes.

On remarquera que l'ion magnésium n'a pas du tout le même rôle que l'ion potassium et que son action sur la pénétration du calcium est, tout d'abord, proportionnelle à sa concentration, mais, après un optimum, diminue lorsque cet ion augmente dans le milieu extérieur. Mais, là encore, d'autres problèmes restent posés. C'est ainsi que des études devraient être entreprises, en tenant compte non seulement d'un élément, mais en faisant varier les rapports K/Ca , Mg/Ca , afin d'étudier les interactions ioniques sur les cystolithes. L'interaction K/Ca serait particulièrement intéressante à envisager. En effet, nous avons vu que le potassium limite l'entrée du calcium dans la plante, mais ces expériences ont été faites avec des milieux renfermant tous la même quantité de calcium. Il serait intéressant de voir si cette action provient d'un déséquilibre calcium-potassium ou si elle demeure lorsque ces deux ions augmentent simultanément dans le milieu extérieur, de telle sorte que le rapport de leurs concentrations reste fixe.

De même, il y aurait lieu d'étudier l'interaction Sr/Ca . En effet, RUSSELL et coll. (1958) pensent que la présence du calcium dans le milieu extérieur freine l'entrée du strontium dans les racines, ce qui laisse supposer que le taux de cet élément, capté par les cystolithes, est fonction non seulement de sa concentration externe propre, mais encore du rapport qui existe entre cette dernière et la concentration en calcium du milieu extérieur.

*
* *

La question de l'oxalate de calcium mériterait également d'être étudiée. Nous avons dit qu'il n'a pas été possible de trouver d'oxalates solubles dans les Pariétaires, et nous avons considéré que l'ion oxalique est toxique pour cette plante. Or, l'oxalate de calcium diminue au fur et à mesure que le potassium augmente dans le milieu extérieur, et devient bientôt indosable. Aussi serait-il intéressant, dans ces expériences, de rechercher l'ion oxalique qui doit, ou s'accumuler dans les tissus, ou être neutralisé par un autre cation, ou, encore, être formé en moins grande quantité par la plante et, par conséquent, tributaire également du potassium.

Enfin, notons que toutes ces expériences devraient être entreprises non sur la seule Pariétaire, mais sur d'autres Végétaux, et en particulier sur des Acanthacées, afin de comparer le comportement des cystolithes globuleux et des cystolithes fusiformes.

*
* *

En résumé, nos recherches ont apporté un certain nombre de faits nouveaux concernant les cystolithes. Parmi ceux-ci, la découverte de ces formations dans une Algue, l'obtention de cystolithes à base de carbonate de strontium cristallisé sont parmi les plus inattendus. Plus simplement, l'emploi d'un grand nombre de techniques, tant physiques que chimiques, ont permis d'élucider certains points obscurs. En particulier, elles ont permis de montrer que les cystolithes du *Pilea* et des Acanthacées sont beaucoup moins éloignés des cystolithes globuleux que ne le prétendaient nos prédécesseurs, la composition chimique et minéralogique étant commune à tous.

Les recherches physiologiques ont permis également de mieux comprendre le rôle des cystolithes et d'émettre quelques hypothèses sur les conditions de leur calcification.

Beaucoup de points cependant, nous l'avons vu, restent à élucider. Comme tous les processus biologiques, la différenciation des cystolithes est un phénomène complexe dans lequel un grand nombre de facteurs intervient. La cellule vivante y joue un rôle prépondérant, et nous avons montré que c'est toujours au contact même du cytoplasme que s'accomplit le développement de ces concrétions. Mais d'autres facteurs entrent en jeu que nous avons essayé de déterminer de notre mieux. Il ne nous appartient pas de juger nos résultats. Mais nous espérons que ce travail, non tant par son acquis et les fragiles interprétations que nous lui avons données, mais par les nombreuses perspectives de recherches qu'il suggère, présentera quelque intérêt dans le domaine scientifique.

BIBLIOGRAPHIE

- ABUTALYBOV (M. G.), 1955. — Utilisation du calcium par cycles successifs dans l'organisme végétal (en russe). *Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 105, pp. 1042-4.
- ABUTALYBOV (M. G.), 1956. — Distribution du calcium chez les végétaux. *Fiziol. Rasten. S.S.S.R.*, 3, pp. 306-12.
- AJELLO (L.), 1941. — Cytology and cellular interrelations of cystolith formation in *Ficus elastica*. *Amer. Journ. Bot.*, 28, pp. 589-94.
- ALBERADA (J. M.), HERNANDO (V.) et SANCHEZ CONDE (M. del P.), 1958. — Interaccion Ca/K en la absorcion des estos elementos por la planta de Trigo. *An. Edafol. Fisiol. veget. Esp.*, 17, pp. 221-56.
- AMAR (M.), 1903 a. — Sur le rôle de l'oxalate de calcium dans la nutrition des Végétaux. *C. R. Ac. Sci.*, 136, pp. 901-2.
- AMAR (M.), 1903 b. — Sur le rôle de l'oxalate de calcium dans la nutrition des Végétaux. *Ibid.*, 137, pp. 1301-3.
- AMAR (M.), 1904. — Sur le rôle de l'oxalate de calcium dans la nutrition des Végétaux. *Ann. Sc. Nat.*, 19, pp. 195-291.
- ARVY (L.), 1957. — Les techniques actuelles d'histoencytologie. *Biol. Méd. Fr.*, 46, pp. 407-37.
- ASAILLY (A.), 1954. — Sur les rapports de l'oxalate de chaux et de l'amidon. *C. R. Ac. Sc.*, 238, pp. 1902-4.
- AVERY (G. S.), 1933. — Structure and development of the tobacco leaf. *Am. J. Bot.*, 20, pp. 576-82.
- BAMFORD (R.), 1931. — Changes in roots tips of wheat and corn grown in nutrient solutions deficient in Ca. *Bull. Torrey Club*, 58, pp. 149-83.
- BAUER (G. C. H.), CARLSSON (A.) et LINDQUIST (B.), 1955. — A comparative study on the metabolism of Sr^{90} and Ca^{45} . *Acta Physiol. Scand.*, 35, pp. 56-66.
- BECKMANN (R.), 1955. — Zur Kritik der alkalischen Serum-Phosphatase und ihres klinischen, diagnostischen Wertes für die Kinderheilkunde. *Z. Vitam. Hormon. Fermentforsch. Oesterr.*, 7, pp. 14-58.
- BENOIST (R.), 1912. — Recherches sur la structure et la classification des Acanthacées de la tribu des Barlériées. *Thèse de Doctorat*. Paris.
- BENTHAM (G.) and HOOKER (J. D.), 1876. — *Genera Plantarum*. Reeve and Co. ed., London, pp. 1060-1122.
- BERG (A.), 1932. — Untersuchungen über die Entwicklungsbedingungen der Zystolithen. *Beih. bot. Centralbl.*, 49, pp. 239-258.
- BHATIA (K. K.), 1955. — Foliar calcium of Teak. *Journ. Ind. Bot. Soc.*, 34, pp. 227-34.
- BIDDULPH (O.), 1953. — Translocation of radioactive mineral nutrients in plants. *Conf. on the use of isotopes in plants and animal. res. Kansas State College. TIB 5098*, pp. 48-58.
- BIDDULPH (O.), 1954. — The distribution of P, S, Ca and Fe in bean plants as revealed by use of radioactive isotopes. *8^e Congrès intern. Bot. Paris*, pp. 7-17.
- BIDDULPH (O.), BIDDULPH (S.), CORY (R.) et KOONTZ (H.), 1958. — Circulation patterns for phosphorus, sulfur, calcium in bean plant. *Plant Physiol.*, 33, pp. 293-300.
- BIDDULPH (O.), CORY (R.) et BIDDULPH (S.), 1959. — Translocation of calcium in the bean plant. *Plant Physiol.*, 34, pp. 512-9.
- BIGALKE (H.), 1933. — Die Blattspodogramme der Urticaceae und ihre Verwendbarkeit für die Systematik. *Beitr. Biol. Pfl.*, 21, pp. 1-58.

- BLEDSE (R. W.), COMAR (C. L.) and HARRIS (H. C.), 1949. — Absorption of radioactive calcium by the peanut fruit. *Science*, 109, pp. 329-30.
- BOLLI (M.), 1951. — Intorno alla funzione escrettrice delle palette di sulla (*Hedysarum coronarium* L.). *Ann. Bot. Ital.*, 23, pp. 498-55.
- BOULD (L.), 1956. — Lutte contre la chlorose provoquée par le calcaire chez les arbres fruitiers au moyen du chélate de Fe. 6^e Congrès intern. Sci. Soc., Paris, pp. 201-7.
- BOWEN (H. J. N.) and DYMOND (J. A.), 1955. — Strontium and Baryum in plants and soils. *Proc. Roy. Soc., serie B*, 144, pp. 355-68.
- BOWEN (H. J. N.) and DYMOND (J. A.), 1956. — The uptake of Calcium and Strontium by plants from soils and nutrient solutions. *J. Exp. Bot.*, 7, pp. 264-72.
- BRADFIELD (J. R. G.), 1947. — Plant carbonic anhydrase. *Nature*, 159, pp. 467-8.
- BRANAS (J.), 1952. — Chlorose. *Prog. Agr. et Viticole*, 69, p. 135.
- BROUWER (R.), 1953 a. — Water absorption by the roots of *Vicia faba* at various transpiration strengths I. *Proc. Kon. Ak. Wet. Amsterdam Ser. C*, 56, pp. 106.
- BROUWER (R.), 1953 b. — Idem ; II. *Ibid.*, p. 129.
- BROUWER (R.), 1954. — Idem, *Ibid.*, 67, p. 68.
- BROUWER (R.), 1956. — Investigations into the occurrence of active and passive components in the ions uptake by *Vicia faba*. *Acta Bot. Neerl.*, 5, p. 287.
- BROWN (T. E.) and EYSTER (H. C.), 1955. — Carbonic anhydrase in certain species of plants. *Ohio. Sci.*, 55, pp. 257-62.
- BRUNEL (A.), 1948. — Traité pratique de chimie végétale. *Georges Frère, Ed.*, Tourcoing.
- BUKOVAC (M. J.), WITTEW (S. H.) et TUKEY (H. B.), 1956. — Anesthetization by diethyl ether and the transport of foliar applied radiocalcium. *Plant Physiol.*, 31, pp. 254-5.
- BUKOVAC (M. J.) and WITTEW (S. H.), 1957. — Absorption and mobility of foliar applied nutrients. *Plant Physiol.*, 32, pp. 428-35.
- BURR (G. O.), 1936. — Carbonic anhydrase and photosynthesis. *Proc. Roy. Soc. London B*, 120, pp. 42-47.
- BURSTRÖM (H.), 1957. — Mineralstoffwechsel. *Fortschr. Bot.*, 19, pp. 221-34.
- BUSLOVA (E. D.), 1958. — Rôle du potassium dans la croissance et la nutrition des plantes (en Ukrainien). *Ukraïn Bot. Zh.*, 15, pp. 15-28.
- BYERRUM (R. V.) and LUCAS (E. H.), 1952. — Studies in plant carbonic anhydrase. II. Kinetic studies. *Plant Physiol.*, 27, pp. 111-120.
- CARLES (J.) et ASSAILLY (A.), 1954. — De l'existence d'un cycle oxalique. *C. R. Acad. Sc.*, 238, pp. 2109-10.
- CARMICHAEL (P. L.), HAMBLIN (C.), GREEN (H.) et LEOPOLD (I. H.), 1957. — Evaluation of histochemical techniques for carbonic anhydrase in ocular tissues. *Arch. opht. U. S. A.*, 58, pp. 169-73.
- CARRE (M. H.) et HAYNES (D.), 1922. — The estimation of pectin as calcium pectate and the application of this method to the determination of soluble pectin in apples. *Biochem. J.*, 16, pp. 60-69.
- CELAN (M.), 1940. — Recherches cytologiques sur les algues rouges. *Thèse Fac. Sc. Paris*, 1940, et *Rev. Cytol. et Cytophysiol. vég.*, V, 1-168, 1941.
- CHAREYRE (J.), 1884. — Nouvelles recherches sur les cystolithes. *Rev. Sci. Nat.*, 3^e série, 3, pp. 523-602 et 4, pp. 1-105.
- COQUOIN-CARNOT (M.) et BARBARIN (Y.), 1956. — Mise en évidence histochimique de l'anhydrase carbonique. *Ann. Hist. Fr.*, 1, pp. 217-20.
- DAVIS (M. B.), 1932. — Investigation of the nutrition of fruit trees. *Journ. Pomology and hort. Sci.*, 3, pp. 316-44.
- DAY (D.), 1929. — Some chemical aspects of calcium deficiency effects on *Pisum sativum*. *Plant Physiol.*, 4, pp. 811-16.
- DAY (D.), 1935. — Some effects of calcium deficiency on *Pisum sativum*. *Plant Physiol.*, 10, pp. 493-506.
- DAY (R.) and FRANKLIN (J.), 1946. — Plant carbonic anhydrase. *Science*, 104, pp. 363-65.

- DETHAN (G.), 1896. — Des Acanthacées médicinales. *Thèse de Pharmacie, Jourdan éd.* Paris.
- DREVON (B.), BERNARD (A.) et MANDON (D.), 1953. — Microdosage du calcium sanguin utilisant l'acide éthylène-diamine tétracétique et la murexide. *C. R. Biol. Fr.*, 147, pp. 1420-4.
- DREVON (B.), 1954. — Sur la sensibilité et la précision des méthodes ultra rapides de dosage de la calcémie. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*, 14, pp. 174-8.
- DROSDOFF (M.), 1954. — Role of leaf analysis in fertilization of tung trees. 8^e Congrès intern. de Bot. Paris, pp. 181-190.
- ENGLER (A.) und PRANTL (K.), 1891-97. — Die natürlichen Pflanzenfamilien. *Engelmann, éd.*, Leipzig.
- ESAU (K.), 1953. — *Plant anatomy*. Chapman and Hall, ed. London.
- FARR (W. K.), 1949. — The tertiary membrane of the plant cell wall. *Journ. Phys. and Colloid. Chem.*, 53, pp. 260-74.
- FELDMANN (J.), 1939. — Les algues marines de la côte des Albères. — *Rev. Algol.*, 11, pp. 247-330.
- FELDMANN (J. et G.), 1944. — Sur les cellules à mucilages de certains *Halymenia* (Rhodophycées). *Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique du Nord*, 35, pp. 41-42.
- FERRAND (M.), 1954. — L'analyse des plantes et la pratique agricole. 8^e Congrès intern. de Bot. Paris, pp. 81-89.
- FERRELI (W. X.) et JOHNSON (F. D.), 1956. — Mobility of Calcium 45 after injection into western white Pine. *Science*, 124, pp. 364-5.
- FISHER (R. A.), 1947. — Les méthodes statistiques adaptées à la recherche scientifique. *Presses Universitaires de France* — Trad. de la 10^e éd. de *Statistical methods for research works*. Oliver et Boyd, Edimbourg, 325 p.
- FREELAND (R. O.), 1936. — Effect of transpiration upon the absorption and distribution of mineral salts in plants. *Amer. Jl. Bot.*, 23, p. 355.
- FREELAND (R. O.), 1937. — Effect of transpiration upon the absorption of mineral salts. *Ibid.*, 24, pp. 373-74.
- FREISLEBEN (R.), 1933. — Untersuchungen über Bildung und Auflösung von Cystolithen bei Urticales. *Flora*, 27, pp. 1-45.
- FREY WYSSLING (A.), 1935. — Die Stoffausscheidungen der höheren Pflanzen. Berlin.
- FREY WYSSLING (A.), 1950. — Physiology of cell wall growth. *Ann. Rev. Pl. Physiol.*, 1, pp. 169-82.
- GALET (M. P.), 1951. — Le dosage du calcaire actif et l'appréciation des sols chlorosants. *Bull. Off. intern. Vin*, 24, pp. 37-42.
- GAUCH (H. G.), 1940. — Responses of the Bean plant to Calcium deficiency. *Plant Physiol.*, 15, 1, pp. 1-23.
- GAUCH (H. G.), 1957. — Mineral nutrition of plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 8, pp. 31-64.
- GAUTHERET (R. J.), 1942. — Manuel de culture des tissus végétaux. *Masson éd.* Paris.
- GOOR (H. V.), 1948. — Carbonic anhydrase. *Enzymologia*, B, 13, pp. 73-164.
- GOREAU (T. H.), 1959. — The physiology of skeleton formation in corals. *Biol. Bull.*, 110, pp. 59-75.
- GOUNY (P.), 1953. — Relation entre la nutrition minérale et les symptômes pathologiques dans la chlorose calcaire. *Ann. Agron.*, 4, pp. 561-98.
- GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.) et PLANTEFOL (L.), 1933. — Traité de cytologie végétale. *Le François éd.*, Paris.
- HABERLANDT (G.), 1924. — Physiologische Pflanzenanatomie. *Engelmann éd.*, Leipzig.
- HARMER (P. M.) and BENNE (E. J.), 1945. — Sodium as a crop nutrient. *Soil Sci.*, 60, pp. 137-48.
- HELLER (R.), 1953. — Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés *in vitro*. *Thèse Doct. Sc.*, Paris.
- HENRICHSEN (E.), 1958. — Alkaline phosphatase and calcification. *Acta orthop. Scand.*, pp. 1-85.
- HIATT (H. H.), MARKS (P. A.) and SHORR (E.), 1953. — Effects of inhibitors on

- calcium deposition in cartilage *in vitro*. *Journ. Biol. chem.*, 204, pp. 187-95.
- HILTZ (P.), 1949. — Note préliminaire sur la cytologie des cellules à cystolithes. Etude du système vacuolaire. *C. R. Ac. Sci.*, 228, pp. 194-96.
- HILTZ (P.), 1951. — Contribution à l'étude des cystolithes et des lithocystes de *Ficus elastica*. *Diplôme d'études sup.*, Paris.
- HILTZ (P.) et POBEGUIN (T.), 1949. — Sur la constitution des cystolithes de *Ficus elastica*. *C. R. Ac. Sci.*, 228, pp. 1049-51.
- HOBELIN (M.), 1884. — Ueber den systematischen Werth der Cystolithen bei den Acanthaceen. *Bot. Jahrb.*, 5, 422-440.
- HORNER (W. H.), 1955. — The determination of calcium in biological chemistry. *J. Lab. Clin. Med. U. S. A.*, 9, pp. 563-6.
- HOTTA (K.), MAKITA (M.), KUROKAWA (M.) et MITSUHASHI (T.), 1958. — Manometric determination of carbonic anhydrase of blood. *Gunma J. Med. Sci. Jap.*, 7, pp. 253-6.
- HUREL-PY (G.), 1936. — Les réactions de Feulgen sur la cellule végétale. *Rev. Cytol. et Cytophysiol. vég.*, 2, pp. 67-76.
- HYLMÖ (B.), 1953. — Transpiration and ions absorption. *Physiol. Plantarum*, 6, p. 333.
- HYLMÖ (B.), 1955. — Passive components in the ion absorption of the plants. *Ibid.*, 8, p. 433.
- HYLMÖ (B.), 1958. — Idem, *Ibid.*, 11, p. 382.
- JAKOVljeVITC (J.), 1925. — Les cystolithes des Borraginacées (en russe). *Spomenik (Srpska Kraljevska Akad) Beograd*, 55, pp. 1-31.
- KALRA (G. S.), 1955. — Responses of the Tomato plant to calcium deficiency. *Bot. Gaz.*, 118, pp. 18-37.
- KERTESZ (Z. I.), 1951. — The pectic substances. *Interscience Publ.*, N. York et London.
- KESSLER (B.) and MOSCICKI (Z. W.), 1957. — Effect of triiodobenzoic acid and maleic hydrazide upon the transport of foliar applied calcium and iron. *Plant Physiol.*, 16, pp. 70-72.
- KESSLER (B.) and MOSCICKI (Z. W.), 1958. — Idem, *Ibid.*, 33, pp. 70-2.
- KNY (L.), 1874. — Botanische Wandtafeln. 11, p. 25.
- KNY (L.), 1893. — Ueber das Zustandekommen der Membranfalten in seinen Beziehungen zum Turgordruck. *Ber. d. d. bot. Gesell.*, 11, pp. 377-91.
- KOHL (F. G.), 1889. — Kalksalze und Kieselsäure in der Pflanze. *Elwert'sche Verlagsbuchhandlung éd.*, Marburg.
- KOSTYTSCHEW (S.) und BERG (V.), 1929. — Die Form der Calciumverbindungen in lebenden Pflanzengeweiben. *Planta*, 8, pp. 55-67.
- KRASTINA (G.), 1952. — Anhydrase carbonique dans les plantes (en russe). *Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 83, pp. 161-64.
- KREBS (H. A.), 1948. — Inhibition of carbonic anhydrase by sulfamides. *Bioch. Journ.*, 43, pp. 525-29.
- KREBS (H. A.) and ROUGHTON (F. J. W.), 1948. — Carbonic anhydrase as a tool in studying the mechanism of reaction involving CO_2 or H_2CO_3 . *Bioch. Jl.*, 43, pp. 550-555.
- KURATA (Y.), 1953. — Histochemical demonstration of carbonic anhydrase activity. *Stain techn.*, 28, pp. 231-33.
- KYLIN (H.), 1937. — Anatomie der Rhodophyceen. *Handb. Pflanzenanatomie*, 6.
- LANGERON (M.), 1942. — Précis de microscopie. *Masson éd.*, Paris.
- LAUSCH (E.), 1958. — Untersuchungen über Calcium-Rücktransport in höheren Pflanzen. *Flora Dtsch.*, 145, pp. 542-88.
- LEGRAND (G.) et SALMON (J.), 1954. — La microradiographie en Biologie végétale. *J. des Recherches du C.N.R.S.*, 26, pp. 1-7.
- LINDAU (G.), 1894. — Beiträge zur Systematik der Acanthaceen. *Bot. Jahrb.*, 18, pp. 36-64.
- LINSBAUER (K.), 1920. — Ueber die kalkfreien Cystolithen der Acanthaceen. *Ber. d. d. bot. Gesell.*, 39, pp. 41-9.

- LOPEZ-GONZALEZ (J. de D.) et JENNY (H.), 1958. — Modes of entry of Strontium into plant roots. *Science U.S.A.*, 128, pp. 90-1.
- LOUÉ (A.), 1954. — Etude de la nutrition du caféier par la méthode du diagnostic foliaire. 8^e Congrès intern. de Bot. Paris.
- LOWENHAUPT (B.), 1956. — The transport of calcium and other cations in submerged aquatic plants. *Biol. Rev.*, 31, pp. 371-95.
- LUCAS (E. H.), 1948. — Preliminary report on plant carbonic anhydrase. *Paper presented at annual meeting of Michigan Acad. Sc., Arts and Letters.*
- LUNDEGARDH (H.), 1940. — The absorption and accumulation of inorganic ions. *Landbruks-Högskol Ann.*, 8, pp. 233-404.
- MAETZ (J.), 1956. — Le dosage de l'anhydrase carbonique. Etude de quelques substances inhibitrices et activatrices. *Bull. Soc. chim. biol.*, 38, pp. 447-74.
- MANIGAULT (P.), 1933. — La tension du gaz carbonique ; condition de la régénération de la coquille chez *Helix*. *Trav. Stat. biol. Roscoff*, 11, pp. 53-9.
- MANIGAULT (P.), 1934. — Sur la fixation des Anomies. *C. R. Soc. Biol.*, 115, pp. 278-80.
- MANIGAULT (P.), 1939. — Recherches sur le calcaire chez les mollusques. Phosphatase et précipitation calcique. *Ann. Inst. Océan.*, 18, pp. 332-426.
- MASON (T. G.) and MASKELL (E.), 1931. — Further studies on transport in the Cotton plant. *Ann. Bot.*, 45, pp. 125-173.
- MELDRUM (N. U.) et ROUGHTON (F. J. W.), 1933. — Carbonic anhydrase. Its preparation and properties. *Journ. Physiol.*, 80, pp. 113-42.
- MESSING (J. A. L.) et OWEN (O.), 1954. — The visual symptoms of deficiencies on *Chrysanthemum*. *Plant and Soil*, 9, p. 101.
- METCALFE (C. R.) and CHALK (L.), 1950. — Anatomy of the dicotyledons. *Clarendon Press*, Oxford.
- MEYEN (J.), 1839. — Matériaux pour servir à l'histoire du développement des diverses parties dans les plantes (Traduction). *Ann. Sc. Nat. Bot.*, série 2, 12, pp. 257-278.
- MICHAEL (G.) et WIEHLBERG (E.), 1951. — Untersuchungen über die Stoffaufnahme der höheren Pflanze. II. *Z. Pfl. Ernähr. Düng.*, 52, p. 242.
- MURTREY (J. E.), 1932. — Relation of calcium and magnesium to the growth and quality of Tobacco. *Journ. Amer. Soc. Agro.*, 24, p. 707.
- NEISH (A. C.), 1939. — Studies on chloroplasts. *Bioch. Journ.*, 33, pp. 300-8.
- NEUESTEIN (H. von), 1914-15. — Ueber den Bau des Zellkerns bei den Algen und seine Bedeutung für ihre Systematik. *Arch. Zellforsch.*, 13, pp. 1-91.
- NIGHTINGALE (G. T.), ADDOMS (R. M.), ROBBINS (W. R.) et SCHERMERHORN (L. G.), 1931. — Effects of calcium deficiency on nitrate absorption and on metabolism in tomato. *Plant Physiol.*, 6, pp. 605-30.
- OKUDA (A.) et KASAI (Z.), 1956. — Transport des éléments minéraux dans les plantes de grande culture. 6^e Congrès intern. Sci. Sol., IV, Paris, pp. 99-106.
- PAYEN (J.), 1846. — Mémoire sur le développement des végétaux. 5^e Mémoire : Concrétions et incrustations minérales. *Mémoire présenté par divers savants*, 9, pp. 75-112.
- PENZIG (O.), 1881. — Zur Verbreitung der Cystolithen in Pflanzenreich. *Bot. Zentralbl.*, 52, pp. 393-401.
- PETERBURSKIJ (A. V.) et SIDORAVA (N. K.), 1955. — Sur le déplacement du calcium et du phosphore chez les végétaux. *Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 105, pp. 1049-1052 (en russe).
- PETERSEN (E.), 1918. — Report on Danish oceanographical expeditions. *Algae*, 2, p. 12.
- PFEIFFER (H.), 1929. — Bemerkung zur Klassifikation zentripetaler Wandverdickungen der Pflanzenzelle. *Ber. d. d. bot. Gesell.*, 47, pp. 141-53.
- PHILLIS (E.) et MASON (T. G.), 1940. — The effect of ringing and of transpiration on mineral uptake. *Ann. Bot.*, 4, p. 645.
- PIETTE (M.) et PIETTE (C.), 1955. — Dosage du calcium sérique par le complexe III. *Ann. Biol. Clin. Fr.*, 13, pp. 136-39.

- PIETTE (M.) et PIETTE (C.), 1956. — Dosage du calcium dans les urines par le complexon III. *Ibid.*, 14, pp. 681-5.
- PIREYRE (N.), 1953 a. — Etude des poils siliceux de *Quisqualis indica*. *C. R. Acad. Sc.*, 236, pp. 742-44.
- PIREYRE (N.), 1953 b. — Etude préliminaire sur la calcification et la décalcification des cystolithes. *Ibid.*, pp. 1595-96.
- PIREYRE (N.), 1954. — Etude des cystolithes de *Ficus sycomorus*. *Ibid.*, 238, pp. 610-2.
- PIREYRE (N.), 1956. — Etude des cellules à pseudo-cystolithes de *Peyssonnelia rubra*. *Vie et Milieu*, 7, pp. 19-26.
- PIREYRE (N.), 1959. — Utilisation du calcium des cystolithes chez la *Parietaria officinalis* L. carencée en ions Ca^{++} . *C. R. Acad. Sc.*, 249, pp. 2386-88.
- PIREYRE (N.), 1960. — Action du strontium sur la croissance de la *Parietaria officinalis* L. et le développement de ses cystolithes. *Ibid.*, 250, pp. 579-81.
- POBEGUIN (T.), 1943. — Les oxalates de calcium chez quelques Angiospermes. Etude physico-chimique. Formation. Destin. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 4, p. 96.
- POBEGUIN (T.), 1951. — Précipitation du carbonate de calcium chez quelques végétaux : existence *in vivo* et *in vitro* du calcaire amorphe. *Ibid.*, 12, pp. 219-25.
- POBEGUIN (T.), 1954 a. — Sur le déterminisme des formes minéralogiques du calcaire chez les animaux et les végétaux. *C. R. Acad. Sc.*, 238, pp. 1924-26.
- POBEGUIN (T.), 1954 b. — Sur la distinction du phosphore et du silicium dans les concrétions ou incrustations calcaires d'origine biologique. *Ibid.*, pp. 2125-7.
- POBEGUIN (T.), 1954 c. — Contribution à l'étude des carbonates de calcium. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 11^e série, pp. 30-109.
- POLICARD (T.), 1938. — La méthode de la microincinération. *Hermann éd.*, Paris.
- PRENANT (M.), 1927 a. — Les formes minéralogiques du calcaire chez les êtres vivants et le problème de leur déterminisme. *Biol. Review*, 2, pp. 365-93.
- PRENANT (M.), 1927 b. — Recherches sur le calcaire chez les êtres vivants. La stabilité du calcaire amorphe et les téguments des Crustacés. *Ann. Physiol. et Physic. Biol.*, 5, pp. 818-44.
- PRENANT (M.), 1930. — Le polymorphisme du calcaire, problème biologique. *Ann. et Bull. Soc. Roy. Sc. Méd. Nat. Bruxelles*, pp. 31-41.
- PRENANT (M.), 1937. — Les modes de calcification chez les animaux. 70^e Congrès des Sociétés Savantes.
- PRÉVOT (P.) et OLLAGNIER (M.), 1954. — Diagnostic foliaire du Palmier à huile et de l'Arachide. 8^e Congrès int. Bot. Paris, pp. 239-60.
- RABIGER (F. H.), 1951. — Untersuchungen an einigen Acanthaceen- und Urticaceen zur Funktion der Cystolithen. *Planta*, 40, pp. 121-44.
- RADLKOFER (L.), 1890. — Ueber die Gliederung der Familie der Sapindaceen. *Sitzungsber. Math. Phys. Akad. Wiss. München*, 20, pp. 119-79.
- RATNER (E. I.), 1935. — Influence of exchangeable sodium in the soil on its properties as a medium for plant growth. *Soil Sci.*, 40, pp. 459-71.
- RENNER (O.), 1910. — Die Lithocysten der Gattung *Ficus*. *Beih. Bot. Centr.*, 25, pp. 183-200.
- REUTHER (W.) and SMITH (P.), 1954. — Leaf analysis as a guide to the nutritional status of Orchard trees. 8^e Congrès int. Bot. Paris, pp. 166-80.
- RICHTER (K.), 1877. — Beiträge zur genaueren Kenntniss der Cystolithen und einiger verwandten Bildungen im Pflanzenreiche. *Sitz. Math. Nat. Ak. Wiss. Wien*, 76, pp. 145-78.
- ROBERT (Th.), 1915. — Recherches sur le rôle physiologique du calcium chez les Végétaux. *Thèse de Doctorat, Paris*, 163 pages.
- ROUGHTON (F. J. W.), 1934. — Carbonic anhydrase. *Ergeb. Enzymforsch.*, 3, pp. 289-302.
- ROUGHTON (F. J. W.) and BOOTH (V. H.), 1938. — The catalytic effects of buffers on the reaction $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CO}_3\text{H}_2$. *Bioch. Journ.*, 32, pp. 2049-69.
- ROUGHTON (F. J. W.) and BOOTH (V. H.), 1946 a. — The manometric determination

- of the activity of carbonic anhydrase under varied conditions. *Bioch. Journ.*, 40, pp. 309-19.
- ROUGHTON (F. J. W.) and BOOTH (V. H.), 1946 b. — The effect of substrate concentration, pH, and other factors upon the activity of carbonic anhydrase. *Bioch. Journ.*, 40, pp. 319-330.
- RUSSELL (R. S.) and SQUIRE (H. M.), 1958. — The absorption and distribution of strontium in plants. *Journ. exp. Bot.*, 9, n° 26, pp. 262-76.
- RUSSELL (R. S.) and SHORROCKS (V. M.), 1959. — The Relationship between transpiration and the absorption of inorganic ions by intact plants. *J. exp. Bot.*, 10, pp. 301-16.
- SACHS (J.), 1870. — Lehrbuch der Botanik. *Wilhelm Engelmann, éd. Leipzig*, p. 38.
- SALMON (J.), 1956 a. — Techniques microradiographiques et histologie végétale. *Symp. on X-ray, microscopy and microradiography*, 28.
- SALMON (J.), 1956 b. — Contribution à la microradiographie en Biologie végétale : cancérisation et croissance des tissus. *Ibid.*
- SATAKE (Y.), 1931. — Systematic and anatomical studies on some Japanese plants. I : Systematic importance of spodograms in Urticales. *J. Fac. Sci. Tokyo Univ.*, 3, 485-511.
- SCHACHT (H.), 1854. — Ueber die gestielten Traubenkörper im Blatte vieler Urticeen und über ihnen nab verwandte Bildungen bei einigen Acanthaceen. *Abh. Senckenberg. Nat. Ges.*, I, pp. 133-53.
- SCHLEIDEN (M. J.), 1846. — Grundzüge der Botanik. *Wielhelm Engelmann éd.*, Leipzig.
- SCHREIBER (H. A.), DAVIS (L. E.) et OVERSTREET (R.), 1957. — Influence of certain adsorbed cations on radish seedling development. *Soil science*, 83, n° 2, pp. 91-9.
- SCOTT (F. M.), 1946. — Cystoliths and plasmodesmata in *Beloperone*, *Ficus* and *Boehmeria*. *Bot. Gaz.*, 107, pp. 372-8.
- SERGEEV (L. I.), SERGEEVA (K. A.) et KANDAROVA (I. V.), 1959. — Apparition de l'amidon dans les bourgeons à fleurs des arbres au cours de l'hiver. *Bjull. Glavn. Bot. Sada S.S.S.R.*, 35, pp. 70-5 (en russe).
- SIBLY (P. M.) and WOOD (J. G.), 1951. — The nature of carbonic anhydrase from plant source. *Austr. journ. Sc. Res.*, B., 4, pp. 500-11.
- SIGNOL (M.) et LEFORT (M.), 1955. — Méthode rapide de séparation des principaux pigments foliaires par chromatographie sur papier. *Rev. gén. Bot.*, 63, pp. 638-85.
- SINNOT (E. W.) et BLOCH (R.), 1945. — The cytoplasmic basis of intercellular patterns in vascular differentiation. *Amer. J. Bot.*, 32, pp. 151-6.
- SIRONVAL (C.), 1953. — A propos de la chromatographie sur papier de la chlorophylle et des caroténoïdes des feuilles. *Arch. intern. Physiol.*, 61, pp. 563-4.
- SMITH (A. M.) and Mc CALLUM (E. S. R.), 1956. — The determination of calcium and magnesium in plant material with disodium ethylenediaminetetraacetate. *Analyst G.B.*, 81, pp. 160-3.
- SMITH (R. L.) and WALLACE (A.), 1956. — Influence of cation ratio, temperature and time on adsorption and absorption of calcium and potassium by *Citrus* and other plant species. *Soil Sci.*, 82, pp. 9-19.
- SOLEREDER (H.), 1885. — Ueber den systematischen Werth der Holzstruktur bei den Dicotyledonen. 1 vol. München.
- SOLEREDER (H.), 1899. — Systematische Anatomie der Dicotyledonen. *Ferdinand Enke éd.*, Stuttgart.
- SOROKIN (H.) and SOMMER (A. L.), 1929. — Changes in the cells and tissues of root tips induced by the absence of calcium. *Am. J. Bot.*, 16, pp. 23-42.
- STAHL (E.), 1920. — Zur Physiologie und Biologie der Exkrete. *Flora*, 113, pp. 101-32.
- STEEMANN NIELSEN (E.) and KRISTIANSEN (J.), 1949. — Carbonic anhydrase in submerged autotrophic plants. *Physiol. Plant.*, 2, pp. 325-31.
- STOLKOVSKI (J.), 1950. — Essai sur le déterminisme des formes minéralogiques du calcaire chez les êtres vivants. *Thèse de Doctorat, Masson éd.*, Paris.

- STOLKOVSKI (J.), 1957. — Le calcium et la vie. *Presses Universitaires de France*, éd., Paris.
- STOLKOVSKI (J.), 1960. — Les enzymes. 1 vol. Coll. *Que sais-je*, Presses Univers., Paris.
- SUMMER (J.) and SOMERS (F.), 1947. — Chemistry and methods of enzymes.
- SWANSON (C. A.) and WHITNEY (J. B.), 1953. — Studies on the translocation of foliar applied P 32 and other radioisotopes in bean plants. *Amer. J. Bot.*, 40, pp. 816-23.
- TEZUKA (Y.), 1959. — The effects of phosphorus and calcium deficiency on the growth and dry matter production in *Chrysanthemum coronarium*. *Bot. Magazine Tokyo*, 72, pp. 51-130.
- THODAY (D.) and EVANS (H.), 1932. — Studies in growth and differentiation. III. The distribution of calcium and phosphate in the tissues of *Kleinia articulata* and some other plants. *Ann. Bot.*, 46, pp. 781-806.
- THORP (F. C.) and HOBBS (J. A.), 1956. — Effect of lime application on nutrient uptake by *Alfalfa*. *Soil Sc. Soc. Amer. Proc.*, 20, pp. 544-7.
- TUKEY (H. B.), WITTWER (S. H.), TEUBNER (F. G.) and LONG (W. G.), 1955. — Utilisation of radioactive isotopes in resolving the effectiveness of foliar absorption of plant nutrients. *Intern. Cong. on the Peaceful uses of atomic energy*, n° 106, Geneva.
- VAN TIEGHEM (Ph.), 1893. — Sur le genre *Cansjera*, le genre *Champeria* et la famille des Opiliacées. *Ann. Sc. Nat.*, 7^e série, 17, pp. 249-57.
- VESQUE (J.), 1885. — Caractères des principales familles gamopétales. *Ann. Sc. Nat.*, Série 7, 1, pp. 303-10.
- WALSH (T.), 1945. — The effect on plant growth of substituting strontium for calcium in acid soils. *Proc. Roy. Ir. Acad.*, 50, pp. 287-95.
- WARINGTON (K.), 1934. — Studies in the absorption of calcium from nutrient solution with special reference to the presence or absence of Boron. *Ann. Bot.*, 48, pp. 743-76.
- WAYGOOD (E. R.) and CLENDENNING (K. A.), 1950. — Carbonic anhydrase in green plants. *Can. journ. of res.*, 28, pp. 673-89.
- WAYGOOD (E. R.) and CLENDENNING (K. A.), 1951. — Intracellular localisation and distribution of carbonic anhydrase in plants. *Science*, 113, pp. 177-9.
- WEDDELL (H.), 1854. — Sur les cystolithes ou concrétions calcaires des Urticacées. *Ann. Sc. nat. Bot.*, 4^e série, 2, pp. 267-72.
- WERNER (O.), 1931. — Haar und Cystolithenscheiben in Blattgeweben bei Urticales. *Oesterr. bot. Zeitsch.*, 80, pp. 81-97.
- WIELER (A.), 1940. — Ueber die wabige Struktur des Cystolithenskelettes und über aktives Flächenwachstum. *Protoplasma*, 34, pp. 70-101.
- WILLIAMS (R. F.), 1955. — Redistribution of mineral elements during development. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 6, pp. 25-42.
- WITTWER (S. H.) and TEUBNER (F. G.), 1959. — Foliar absorption of mineral nutrition. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 10, pp. 12-32.
- WOOD (J. G.) and SIBLY (P. M.), 1952. — Carbonic anhydrase activity in plants in relation to zinc content. *Austr. journ. Sc. research, ser. B*, 5, pp. 244-55.
- WRIGHT (K. E.), 1939. — Transpiration and the absorption of mineral salts. *Plant Physiol.*, 14, p. 171.
- ZAMBOTTI (V.), 1955. — Su alcuni sistemi enzimatici della cartilagine di conjugazione. *Farm. ed. Sci. Ital.*, 10, pp. 1017-26.
- ZURBICKIJ (Z. I.) and SHTRAUSBERG (D. V.), 1954. — Influence de la température sur l'absorption du phosphore et du calcium par les plantes. *Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 96, pp. 1065-7 (en russe).

TABLE DES MATIÈRES

Introduction.	95
Historique.	98

PREMIÈRE PARTIE

Matériel et Techniques

CHAPITRE I. — Matériel.....	105
CHAPITRE II. — Techniques.....	109
I. — Techniques classiques d'observation.....	109
II. — Techniques spéciales.....	112
A. <i>Isolement des cystolithes</i>	112
B. <i>Détection du strontium dans les cystolithes</i>	113
C. <i>Extraction des jus</i>	113
D. <i>Isolement de l'anhydrase</i>	113
E. <i>Microincinérations</i>	115
F. <i>Radiographies</i>	115
G. <i>Diagrammes de rayons X</i>	115
H. <i>Spectres infra-rouges</i>	116
I. <i>Spectres d'émission</i>	116
III. — Techniques de culture.....	116
IV. — Techniques de dosage du calcium.....	122
V. — Comparaison des résultats numériques.....	126

DEUXIÈME PARTIE

Etude morphologique et histochimique des cystolithes

CHAPITRE I. — Diverses formes de cystolithes et étude de leur répartition dans les tissus, les organes et les différentes familles végétales.....	129
I. — Différentes formes de cystolithes.....	129
II. — Répartition des cystolithes.....	132

III. — Rapport entre la forme des cystolithes et leur répartition dans les différents organes et tissus.....	138
IV. — Rapport entre la forme des cystolithes et leur répartition à l'intérieur des différentes familles végétales.....	139
V. — Discussion.....	147
CHAPITRE II. — Développement des cystolithes et modifications cellulaires qui l'accompagnent.....	151
I. — Cystolithes globuleux.....	151
II. — Cystolithes allongés.....	156
III. — Cystolithes du <i>Peyssonnelia rubra</i> J. Ag. (Squamariacée).....	161
IV. — Dépôts calcaires en amas.....	163
V. — Discussion.....	165
CHAPITRE III. — Mode d'apparition et de répartition des cystolithes dans les limbes foliaires.....	169
I. — Nombre de cystolithes dans les diverses feuilles d'un même plant.....	170
II. — Répartition des cystolithes à l'intérieur d'une même feuille...	174
III. — Taille des cystolithes en fonction de l'âge des feuilles et de leur développement.....	182
IV. — Discussion.....	187
CHAPITRE IV. — Nature chimique des cystolithes.....	191
I. — Etude des cystolithes avant décalcification.....	191
II. — Etude des cystolithes après décalcification.....	197
III. — Discussion.....	205

TROISIÈME PARTIE

Exposé des recherches physiologiques

CHAPITRE I. — Recherches préliminaires.....	211
I. — Influence de la lumière sur la calcification des cystolithes.....	211
II. — Etude de la croissance et des différentes formes de calcium au cours de la vie du <i>Parietaria officinalis</i>	214
CHAPITRE II. — Etude de l'action de quelques ions sur la croissance et les différentes formes de calcium du <i>Parietaria officinalis</i>	227
I. — Etude des ions Cl^- et Na^+	227
II. — Etude des ions calcium.....	232
III. — Etude des ions magnésium.....	239
IV. — Etude des ions potassium.....	247

CHAPITRE III. — Influence du strontium sur les cystolithes du <i>Parietaria officinalis</i>	259
I. — Etude générale.....	259
II. — Essais complémentaires.....	266
III. — Discussion.....	267
CHAPITRE IV. — Possibilité de réutilisation du calcium des cystolithes.....	269
CHAPITRE V. — Possibilité d'intervention d'une enzyme dans la calcification des cystolithes.....	279
I. — Expériences permettant de mettre en évidence une action enzymatique possible sur la calcification des cystolithes.....	280
II. — Enzyme susceptible d'intervenir dans la calcification des cystolithes.....	284
III. — Mise en évidence de l'anhydrase carbonique dans les végétaux expérimentés.....	284
IV. — Expériences faites avec l'extrait anhydrasique de <i>Pariétaire</i>	287
V. — Mode d'action possible de l'anhydrase.....	287
VI. — Discussion.....	288

Conclusions et commentaires généraux

I. — Résumé des principaux résultats obtenus.....	293
A. Etude morphologique ..	293
B. Etude physiologique.....	296
II. — Considérations d'ordre général.....	300
Bibliographie	308

LEGENDES DES PLANCHES

PLANCHE I

A. — Jardinière utilisée pour les cultures de Pariétaires.

On voit les bouchons de matière plastique qui obturent les deux orifices inférieurs permettant de laver périodiquement, par courant descendant, substrat et racines.

B. — Aspect des germinations au moment du repiquage.

Elles sont toutes de taille comparable (1 cm environ), seules leurs feuilles cotylédonairees sont épanouies et la racicule n'est pas encore ramifiée.

PLANCHE II

Radiographie d'une feuille F_3 de Pariétaire.

Les cystolithes sont nettement calcifiés au sommet du limbe (A, $\times 30$), mais ne sont pas encore visibles dans la région pétioleaire de ce même limbe (B, $\times 30$).

PLANCHE III

Radiographie d'une feuille de *Ruellia strepens* L. (Acanthacée).

Les cystolithes semblent plus volumineux à la pointe et sur les bords du limbe que dans les autres régions de la feuille.

PLANCHE IV

A. — Cystolithe de *Peyssonnelia rubra* (Squamariacée).

On voit ici la disposition du calcaire en zones concentriques.

B. — Diagramme de rayons X de cystolithes de *Peyssonnelia rubra* (Squamariacée).

Diagramme obtenu par la méthode du cristal tournant (chambre de Rose) :

a) Diagramme d'aragonite ;

b) Diagramme d'une poudre de cystolithes.

On retrouve en b les raies de l'aragonite.

PLANCHE V

A. — Influence du chlorure de sodium sur la croissance des Pariétaires.

L'augmentation de croissance provoquée par ce sel est toujours très faible.

B. — Influence des ions calcium sur la croissance des Pariétaires.

L'optimum de concentration se situe aux environs de 8 ml Ca.

PLANCHE VI

A. — Influence des ions magnésium sur la croissance des Pariétaires.

L'optimum de concentration se situe aux environs de 4 mI.

B. — Influence des ions potassium sur la croissance des Pariétaires.

Le potassium accélère la croissance des Pariétaires sans qu'il soit possible de distinguer un optimum net d'élongation dans nos conditions d'expériences.

PLANCHE VII

Pariétaires photographiées deux mois après leur repiquage sur des milieux à différentes concentrations en Ca^{++} et Sr^{++} .

a) Milieux à 0,5 mI Ca^{++} et 0,5 mI Ca^{++} 1,6 mI Sr^{++} .

b) Milieux à 1 mI Ca^{++} et 1 mI Ca^{++} 1,1 mI Sr^{++} .

L'action toxique du strontium sur la croissance est très nette.

PLANCHE VIII

A. — Aspect d'un plant de Pariétaire de 1 mois et demi.

On voit déjà des ramifications sur la tige principale.

B. — Aspect des Pariétaires cultivées sur liquide de Knop dans lequel tout le calcium est remplacé par du strontium.

La photographie montre l'enroulement des feuilles sur leur face inférieure.

C. — Cystolithes cotylédonaire de Pariétaires :

a) Cultivées sur milieu de Knop dilué.

b) Cultivées sur milieu de Knop dans lequel le calcium est totalement remplacé par du strontium.

c) La figure c représente le même cystolithe qu'en b, mais vu entre nicols croisés, ce qui permet d'observer sa forte biréfringence. De plus, on remarque que les Pariétaires cultivées sur le milieu renfermant du strontium (b) ont de plus gros cystolithes que les témoins (a).



X 2

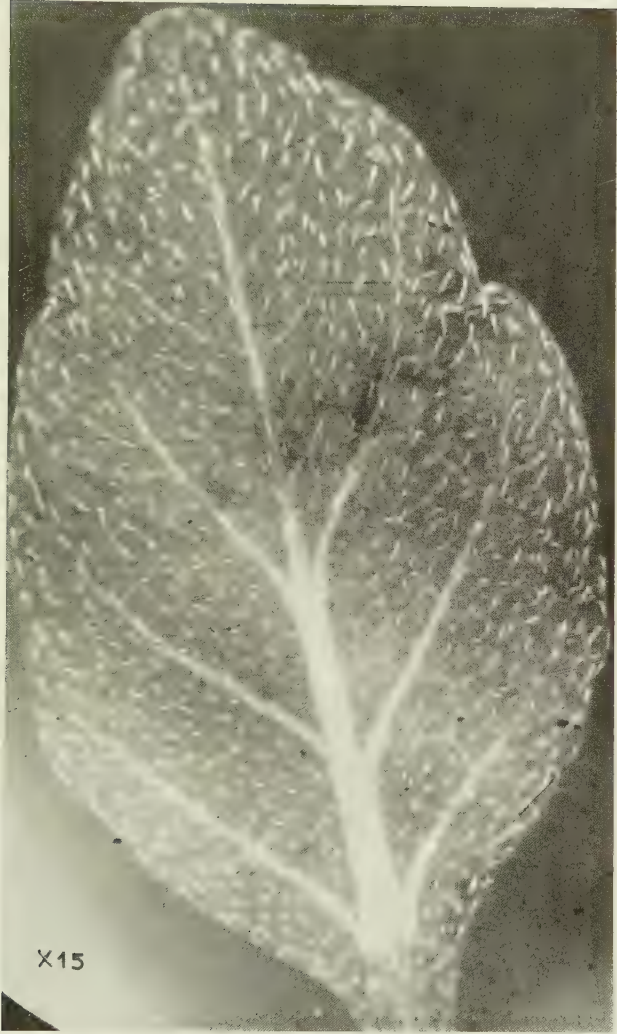
13

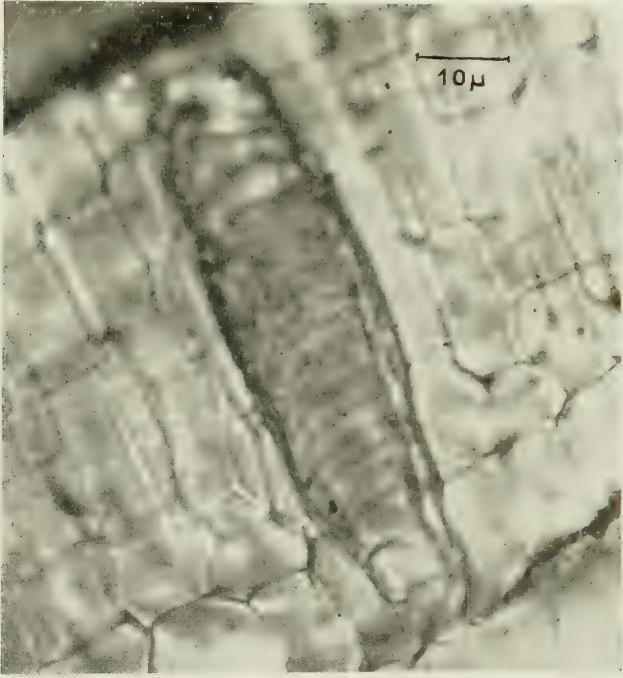


A

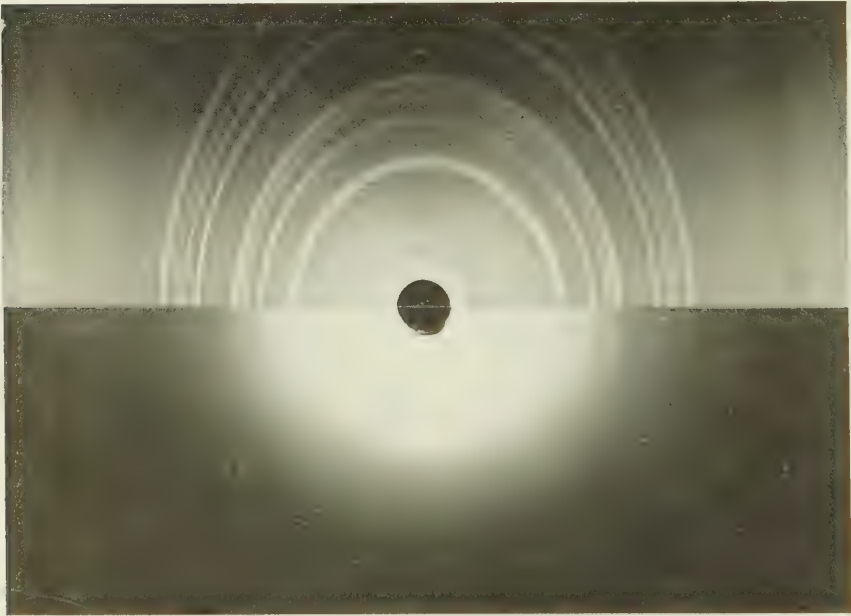


B

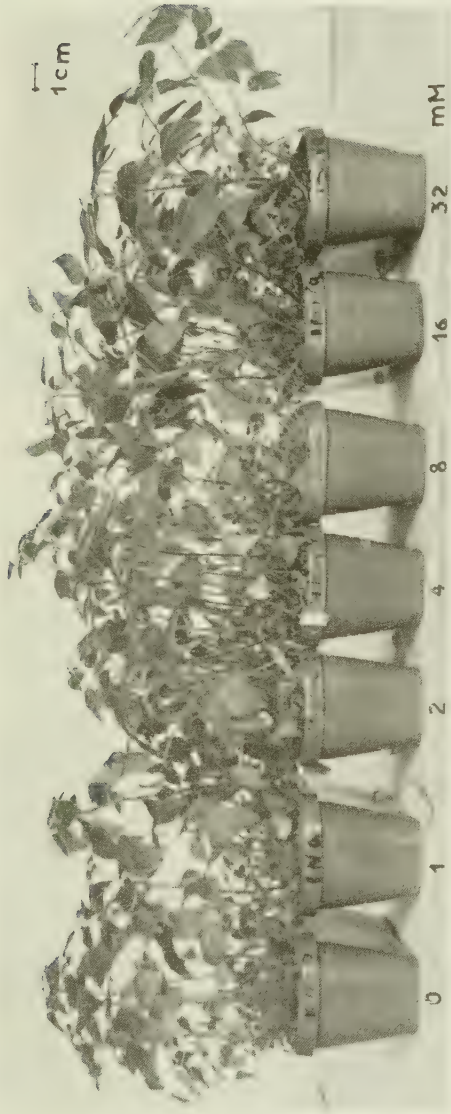




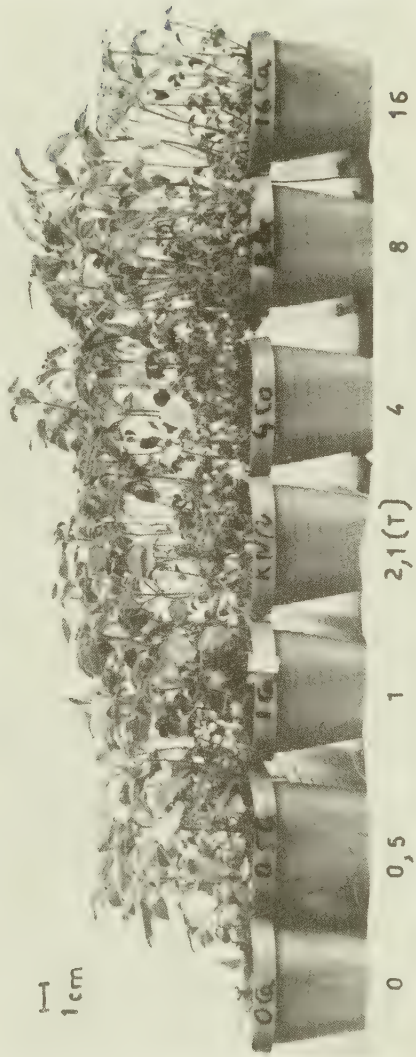
A



B



A



B

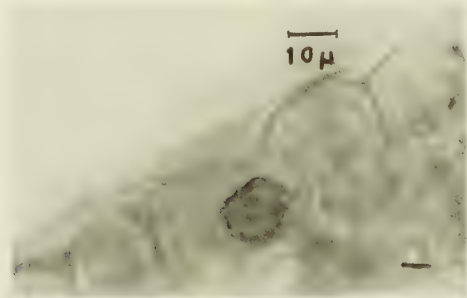




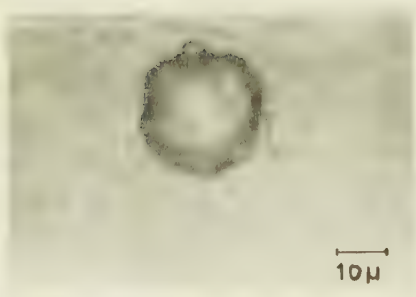
A



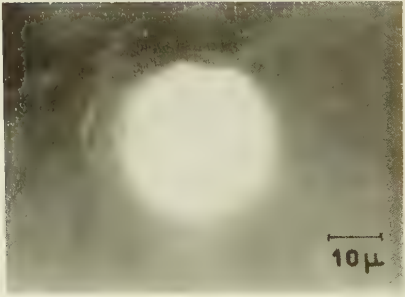
B



C a



C b



C c

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

LES SUBSTANCES PECTIQUES

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 3 Décembre 1960.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

J. PÉRÈS

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean SARRAILH

